UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1955 — N° 382

# RECHERCHES PHYSICO-CHIMIQUES ET PHYSIO-PATHOLOGIQUES SUR LE CHOLESTÉROL DU SÉRUM SANGUIN

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention "PHARMACIE"

*Présentée et soutenue publiquement le Mardi 22 Mars 1955*

PAR

**Robert NIVET**

PHARMACIEN
DOCTEUR EN MÉDECINE
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE COLONIALE
BREVETÉ MÉDECIN DE LA MARINE MARCHANDE
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE DU TRAVAIL
CHARGÉ DES FONCTIONS D'ASSISTANT
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Né à Barbezieux, (Charente), le 19 Octobre 1919.

Examinateurs de la Thèse :

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*
SIGALAS, professeur.....
GIRARD, professeur..... *Juges*
PAUTRIZEL, professeur.....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1955

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547309_0039

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1955 — N° 382

# RECHERCHES PHYSICO-CHIMIQUES ET PHYSIO-PATHOLOGIQUES SUR LE CHOLESTÉROL DU SÉRUM SANGUIN

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention "PHARMACIE"

*Présentée et soutenue publiquement le Mardi 22 Mars 1955*

PAR

**Robert NIVET**

PHARMACIEN
DOCTEUR EN MÉDECINE
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE COLONIALE
BREVETÉ MÉDECIN DE LA MARINE MARCHANDE
DIPLÔMÉ DE MÉDECINE DU TRAVAIL
CHARGÉ DES FONCTIONS D'ASSISTANT
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

Né à Barbezieux, (Charente), le 19 Octobre 1919.

Examinateurs de la Thèse :

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*
SIGALAS, professeur.....
GIRARD, professeur..... *Juges*
PAUTRIZEL, professeur.....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1955

# FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

**DOYENS HONORAIRES** : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
**DOYEN** : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

## PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHET, PERRENS

## PROFESSEURS :

| | MM. |
|---|---|
| Clinique médicale | CREYX, BROUSTET |
| Clinique chirurgicale | PAPIN, MASSÉ |
| Clinique d'accouchements | RIVIÈRE |
| Clinique gynécologique | MAGENDIE |
| Anatomie pathologique et microscopie clinique | DE GRAILLY |
| Anatomie | DUFOUR |
| Anatomie générale et histologie | MAYER |
| Hygiène et Clinique de la tuberculose | PIÉCHAUD |
| Médecine légale et médecine du travail | DERVILLÉE |
| Electroradiologie et clinique d'électricité médicale | REBOUL |
| Chimie | MESNARD |
| Matière médicale | GOLSE |
| Pharmacie | VITTE |
| Physiologie | FABRE |
| Clinique médicale des maladies des enfants | FONTAN |
| Zoologie et parasitologie | SIGALAS |

| | MM. |
|---|---|
| Pathologie générale et expérimentale | SARIC |
| Clinique ophtalmologique | BEAUVIEUX |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie | POUYANNE |
| Clinique médicale et des maladies infectieuses | AUBERTIN |
| Chimie biologique et médicale | TAYEAU |
| Physique médicale et pharmaceutique | PIFFAULT |
| Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques | BONNIN |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques | JOULIA |
| Clinique des maladies des voies urinaires | DARGET |
| Clinique des maladies nerveuses et mentales | DELMAS-MARSALET |
| Clinique d'oto-rhino-laryngologie | PORTMANN |
| Toxicologie et hygiène appliquée | CASTAGNOU |
| Clinique odonto-stomatologique | DUBECQ |
| Botanique et cryptogamie | GIRARD |
| Thérapeutique | F.-J.TRAISSAC |
| Hydrologie thérapeutique et climatologie | DUBARRY |

## PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

## PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie)

## MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

| | MM. |
|---|---|
| Physiologie | Mlle ROUGIER |
| Bactériologie | MOUSTARDIER |
| Anatomie pathologique | LÉGER |
| Anatomie | RIGAUD |
| Pharmacie (1re Section) | R. GOLSE |

| | MM. |
|---|---|
| Pharmacie (2e Section) | MASQUELIER, QUILICHINI |
| Pharmacie (3e Section) | CAZAUX |
| Biochimie médicale | NEUZIL |
| Pathologie expérimentale | FAURE |

## CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

## AGRÉGÉS EN EXERCICE :

| | MM. |
|---|---|
| Médecine générale | BERGOUIGNAN, LENG-LÉVY, MORETTI, LAVIGNOLLE |
| Chirurgie générale | LAUMONIER, CHAVANNAZ, VILLAR, TINGAUD, DEPAULIS |
| Obstétrique | CHASTRUSSE, FAUGÈRE |

| | MM. |
|---|---|
| Ophtalmologie | BESSIÈRE |
| Oto-rhino-laryngologie | DESPONS |
| Dermatologie et syphiligraphie | LE COULANT |
| Pédiatrie et puériculture | VERGER |
| Médecine légale et médecine du travail | L'ÉPÉE |
| Electro-radiologie | LACHAPÈLE |
| Odonto-stomatologie | BENOIT |
| Urologie | LANGE |

## COURS COMPLÉMENTAIRES :

| | MM. |
|---|---|
| Médecine opératoire | LAUMONIER |
| Accouchements | CHASTRUSSE |
| Puériculture | VERGER, PÉRY |
| Législation pharmaceutique | COUSTOU |
| Anatomie | CABANIÉ |
| Cryptogamie | LAUBIE |
| Obstétricie sociale | MAHON |

| | MM. |
|---|---|
| Organographie et physiologie végétale | TEMPÈRE |
| Chimie biologique analytique | MARQUEVIELLE |
| Chimie analytique | BABIN |
| Pathologie chirurgicale | LAUMONIER, VILLAR |
| Zoologie pharmaceutique | BAILENGER |
| Physiologie | BENELLI |
| Toxicologie et Hygiène | Mlle LARCEBAU |

*Le Secrétaire principal de la Faculté* : GAYRAUD

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A LA MÉMOIRE DE MA SŒUR

---

A MA FEMME

---

A MES ENFANTS

---

A MES PARENTS

---

A MES BEAUX-PARENTS

---

A TOUS LES MIENS

A MON MAITRE DE STAGE

MONSIEUR HENRI PLANTÉ

DOCTEUR EN PHARMACIE

En souvenir des agréables journées passées dans son officine.

---

AU CONSEIL D'ADMINISTRATION ET A LA DIRECTION

DE LA CAISSE RÉGIONALE DE SÉCURITÉ SOCIALE

DE BORDEAUX

C'est au Centre de Recherches de Biologie préventive de cet organisme que notre travail a été réalisé. De tous côtés, nous n'avons trouvé que sympathie, amabilité et compréhension.

Nous conserverons de notre séjour au Centre de Biologie un inoubliable et vivant souvenir.

---

A MES CAMARADES DE LABORATOIRE

---

A MES MAITRES

DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

DE BORDEAUX

## A NOS JUGES

### MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PAUTRIZEL

DOCTEUR ÈS SCIENCES
DIRECTEUR DU LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL DE SÉROLOGIE
EXPERT DE L'ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ
CROIX DE GUERRE 1939-1945
OFFICIER D'ACADÉMIE

En souvenir d'une ancienne et très grande amitié.

### MONSIEUR LE PROFESSEUR R. GIRARD

PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE CRYPTOGAMIE
DIRECTEUR DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE TALENCE
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
OFFICIER DE L'ORDRE DE LA SANTÉ PUBLIQUE
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE
OFFICIER DU MÉRITE AGRICOLE
OFFICIER DU MÉRITE TOURISTIQUE

Dont nous avons gardé un si bon souvenir et qui veut bien nous faire le grand honneur de siéger dans notre jury.
Hommage respectueux.

### MONSIEUR LE PROFESSEUR R. SIGALAS

PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET PARASITOLOGIE
DIRECTEUR HONORAIRE DE LA STATION BIOLOGIQUE D'ARCACHON
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR
CROIX DE GUERRE
OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE
CHEVALIER DU MÉRITE MARITIME

A notre premier Maître, nous adressons tous nos remerciements pour l'intérêt constant et affectueux qu'il n'a jamais cessé de nous témoigner.
Hommage de respectueuse reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

## MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TAYEAU

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER D'ACADÉMIE

Les longues heures distraites à vos multiples travaux ont seules permis la mise au point de cette thèse. Veuillez trouver ici, mon cher Maître, le témoignage de toute ma gratitude. Enfin, l'enseignement et les conseils que vous nous avez prodigués sans cesse n'ont fait qu'augmenter notre dette de reconnaissance envers vous et l'immense intérêt que nous portons à la biochimie.

# RECHERCHES PHYSICO-CHIMIQUES ET PHYSIO-PATHOLOGIQUES SUR LE CHOLESTÉROL DU SÉRUM SANGUIN

## INTRODUCTION

Pendant bien longtemps, la chimie a été considérée comme une science accessoire de la physiologie et de la physio-pathologie. Son rôle se bornait simplement à mettre au point des techniques de dosage des constituants vivants et à établir des bilans rendant compte des modifications quantitatives de ces constituants au cours de la vie chez l'individu normal et le malade. Cette période, qui a scellé les fondations de la biochimie moderne et qui n'est peut-être pas toujours appréciée comme il conviendrait, est aujourd'hui dépassée.

La biochimie tend de plus en plus à présent à étudier les constituants vivants au sein même de la cellule. Grâce à des techniques physico-chimiques fines, elle saisit les modifications qualitatives et pénètre toujours plus avant dans la structure cellulaire. Elle s'est ainsi substituée pour une grande part à la physiologie et à la pathologie cellulaires. Aussi, on peut dire que la biochimie actuelle, dans son aspect médical, constitue en quelque sorte une physio-pathologie biochimique, dans laquelle se cotoient des notions purement physico-chimiques et des considérations d'ordre pathologique; on s'explique ainsi la conception de « maladies moléculaires », chère à PAULING.

On s'est alors aperçu à la suite de cette évolution que des phénomènes, considérés jadis comme indépendants les uns des autres, évoluaient en parfaite corrélation : on ne considère plus aujourd'hui de métabolismes glucidique, lipidique et protidique; il n'existe qu'un métabolisme intermédiaire dont l'unité s'explique par les interconversions multiples qui rejoignent les voies, jadis isolées, de la dégradation. Si nos ouvrages classiques ont maintenu l'ancienne division des métabolismes, c'est uniquement pour des raisons didactiques.

Le travail que nous présentons, et qui montre les relations existant entre deux séries de phénomènes longtemps étudiés indépendamment l'un de l'autre, ne fait que confirmer la grande unité métabolique. Notre thèse s'intègre dans un ensemble de travaux réalisés sous la direction de M. le Professeur Tayeau.

Dès 1937, M. Tayeau s'est attaché à l'étude des associations lipido-protéidiques au sein du sérum sanguin. Au cours d'un certain nombre de recherches, décrites dans la partie historique de notre travail, il est parvenu à expliquer l'état des lipides et particulièrement du cholestérol dans le sérum. Cependant, aucune étude systématique n'avait été abordée sur les rapports existant entre la stabilité du cholestérol et son état (cholestérol estérifié ou non).

Lorsque nous lui avons demandé un sujet de travail, M. le Professeur Tayeau nous confia ce problème et nous proposa d'étudier les relations existant entre la stabilité des associations lipido-protéidiques et l'estérification du cholestérol dans le sérum sanguin. On concevra donc que la première partie de notre travail soit consacrée à une mise au point de ces deux questions.

Nos recherches expérimentales comportent l'étude d'inhibiteurs de l'estérification du cholestérol, les sels biliaires (chapitre premier) et les saponosides (chapitre II). Elles s'attachent ensuite au problème essentiel qui nous a été confié : les rapports entre les associations lipido-protéidi-

ques et l'estérification du cholestérol (chapitre III) ; elles envisagent encore un problème très voisin, le pouvoir cholestérolytique (chapitre IV).

Les résultats que nous obtenons se trouvent alors transposés dans le domaine pathologique et nous conduisent à étudier le cas particulier des ictères (chapitre V), de la néphrose lipoïdique (chapitre VI) et de certaines hypercholestérolémies expérimentales (chapitre VII).

Nous ne voudrions pas aborder le détail de nos recherches sans adresser nos plus vifs remerciements à la Caisse régionale de Sécurité Sociale de Bordeaux et à ses dirigeants qui, depuis longtemps déjà, ont compris le grand intérêt de la recherche scientifique dans la prévention sociale. C'est, en effet, au Centre de recherches de biologie préventive de cet organisme que nos travaux ont été réalisés; au laboratoire de biochimie et d'immunologie de ce centre, nous avons trouvé non seulement l'aide matérielle nécessaire à la réalisation de nos expériences, mais encore les collaborations techniques les plus amicales et les plus dévouées.

A notre maître, M. le Professeur Tayeau, il nous est particulièrement difficile de traduire en quelques lignes l'immense joie toujours ressentie à ses côtés. Grâce à la qualité de ses conseils, à la justesse et à la solidité de ses hypothèses, nous avons pu effectuer ce travail. Nous ne pouvons lui exprimer en retour que notre profonde admiration et nos remerciements les plus sincères.

# PREMIÈRE PARTIE

## ÉTUDE HISTORIQUE

# CHAPITRE PREMIER

## LES ASSOCIATIONS LIPIDO-PROTÉIDIQUES AU SEIN DU SÉRUM. ÉTAT DU CHOLESTÉROL SÉRIQUE.

Le sérum sanguin constitue un liquide limpide et homogène; il renferme cependant une notable quantité de lipides (5 à 12 g par litre), substances insolubles dans l'eau. Pour expliquer le maintien des lipides en phase aqueuse, diverses conceptions ont été émises. Thudicum [146], le premier, ayant noté que les émulsions de lipides présentent une relative stabilité en milieu alcalin, attribue à l'alcalinité du sang le masquage des lipides sériques. Cette conception tomba rapidement en désuétude lorsque l'on se rendit compte de la neutralité du sérum (*p*H 7,35). Plus tard, Long et Gephart [64] attribuaient aux sels biliaires la stabilité des lipides sériques; cette assertion perdit rapidement sa signification, lorsqu'il fut démontré que le sérum ne contenait que des traces de sels biliaires.

A la suite des travaux de Miescher, Biedermann et Ciaccio, ayant prouvé que les protéines étaient responsables du « masquage » des lipides cellulaires, les protéines furent également incriminées pour expliquer l'état des lipides sériques.

## I. — Les cénapses lipido-protéidiques

Pour conclure à l'exactitude de cette conception, il fallait isoler des complexes lipido-protéidiques. C'est Machebœuf [68] qui réussit cet isolement : cet auteur extrait du sérum sanguin une fraction protéidique qui, soumise à de nombreuses purifications, conserve toujours une même teneur en protéine et en lipides divers. Cette fraction, malgré sa richesse en lipides (40 p. 100), est très soluble dans l'eau et ne livre pas ses lipides lorsque sa solution est agitée avec de l'éther. Pour désigner de tels complexes, Machebœuf [69] a proposé le terme de *cénapses,* qui ne préjuge en rien du mode de liaison unissant les constituants protéidiques aux constituants lipidiques.

Avant même l'isolement des cénapses par Machebœuf, diverses théories avaient été échaffaudées pour expliquer le mode de liaison unissant les lipides aux protéines. Des liaisons ioniques furent tout d'abord invoquées (Dormeyer [31], Erlandsen [34], Troensgaard et Koudahl [147]), mais l'existence de telles liaisons ne fut pas admise par Sœrensen [109] en raison de leur rupture possible sous l'influence de l'alcool.

Machebœuf et ses élèves s'attachent à la nature de ces liaisons et abordent leurs recherches par une étude concernant l'action de l'éther légèrement alcoolisé sur le sérum sanguin (Machebœuf et Sandor [77]) ; ces auteurs mettent en œuvre des quantités d'alcool assez faibles afin de ne jamais provoquer la dénaturation des protéines sériques. Lorsque de l'éther légèrement alcoolisé (6 à 8 p. 100) est ajouté au sérum, l'alcool diffuse peu à peu dans la phase aqueuse et permet à l'éther d'extraire une appréciable quantité de lipides (glycérides, phosphatides, stérides et cholestérol).

Ce résultat amène les auteurs à formuler une hypothèse sur la nature des liaisons lipides-protéines : les lipides

seraient unis aux protéines grâce à la solvatation réciproque que présentent leurs chaînes polyméthyléniques homologues : on sait en effet que de telles chaînes existent aussi bien dans les molécules de protéines (chaînes de leucine, valine, phénylalanine) que dans celles des lipides (chaînes d'acides gras des divers lipides, chaîne de l'isooctane du cholestérol). Les quelques fonctions polaires que contiennent les lipides s'orientent alors à la périphérie de la molécule vers l'eau ambiante, aux côtés des fonctions polaires de la molécule protéidique. On conçoit ainsi la stabilité de la particule lipido-protéidique grâce à l'existence de ces fonctions polaires. Ces dernières créeraient autour de la particule une ambiance ionique contrainte [70] expliquant le masquage des lipides. L'alcool qui pénétrerait cette ambiance la diminuerait et permettrait l'extraction des lipides par l'éther.

Si cette conception est exacte, il doit être possible de déplacer les lipides en ajoutant au sérum et en quantité suffisante des substances également polyméthyléniques et suffisamment solubles dans l'eau. Il en est bien ainsi et Machebœuf et Tayeau [78] ont effectivement montré que, si l'on ajoute au sérum une solution d'un savon alcalin, il apparaît un précipité qui, par agitation avec de l'éther, vient se dissoudre dans ce solvant; ce précipité est constitué par des glycérides, des phosphatides, des stérides et des stérols. Toutes les fractions protéidiques du sérum ne sont pas également sensibles à l'action du savon, mais les globulines peuvent être entièrement privées de leurs lipides; cette constatation a permis aux auteurs de mettre au point une technique de délipidation des globulines sériques et de démontrer la nature des euglobulines [79].

Cet ensemble de recherches n'établit aucune distinction entre les diverses substances lipidiques du sérum, qui se trouvent ainsi directement fixées aux protéines.

De nouvelles recherches réalisées par Tayeau [21] sont venues créer une distinction entre les phospholipides et

le cholestérol. Cet auteur a montré que certains saponosides, et en particulier celui extrait du *Sapindus mukorosi* [132], dont la structure présente une parenté avec celle du cholestérol, possèdent en présence d'éther la propriété de « décoller » quantitativement et électivement le cholestérol sérique, qui vient se dissoudre dans l'éther. Les phosphatides ne sont nullement « touchés ». Cette constatation a d'ailleurs permis à l'auteur de mettre au point une technique d'extraction [124] et de dosage [125] du cholestérol sérique.

Le fait qu'il est possible d'extraire le cholestérol sans « toucher » aux autres lipides, mais qu'il s'avère impossible de « décoller » les phosphatides sans entraîner le cholestérol (cas des savons) a conduit Tayeau [129] à considérer les phosphatides comme le trait d'union entre les protéines et le cholestérol.

D'autres substances permettent d'extraire, sinon quantitativement du moins électivement, le cholestérol sérique; citons le déhydroabiétate de sodium [75] et les saponiums, savons cationiques [92]. Le fait qu'une substance déterminée ne décolle que les lipides présentant une constitution voisine a conduit Machebœuf à la notion d'*icélomorphisme* [70].

## II. — Conceptions nouvelles sur les associations lipido-protéidiques

De nouvelles recherches étaient abordées grâce surtout à la mise en œuvre de substances superficiellement actives (voir [28]).

Un ensemble de travaux consistant à établir des comparaisons entre le comportement des associations lipido-protéidiques naturelles et des associations artificielles variées allait permettre d'envisager sous un aspect nouveau l'état des lipides sériques. Les divers types d'associations artificielles étudiées sont les suivantes : protéines-

détergent anionique, protéines-détergent cationique, détergent-lipides, protéines-gomme arabique, protéines-acides nucléiques, protéines-colorant, protéines-lécithines, lipides-lipides.

La plupart de ces associations artificielles se conduisent absolument comme les associations naturelles protéines-lécithines. Or ces associations artificielles sont dues à une union par forces ioniques. Il faut donc admettre, contrairement aux précédentes hypothèses, que les lécithines seraient unies aux protéines, non par des forces de Van der Waals, mais par une liaison électrovalentielle. Etant donné que le sérum sanguin présente un *p*H (7,35) supérieur à l'isoélectrique de ses protéines (6 pour les globulines, 4,9 pour les albumines), ces dernières se trouvent surtout ionisées négativement; il était donc logique d'admettre que l'union entre les protéines et les lécithines se trouve réalisée aux dépens de groupes électro-négatifs (acides) de la protéine et de groupes électropositifs (azote quaternaire) des lécithines. C'est d'ailleurs à une telle conception qu'est parvenu Chargaff [19].

Certains pensent que la liaison ionique lécithines-protéines se trouve renforcée par des attractions de Van der Waals (Klotz [53]); mais ce n'est pas l'avis de Dervichian [28] qui estime que ces forces n'interviendraient que pour unir les phosphatides aux autres lipides.

Le cholestérol et les autres lipides se trouveraient directement unis sur les phosphatides. La nature de l'union a pu être élucidée au cours d'études comparatives entre certaines associations artificielles lipides-lipides et les associations naturelles. Ces études, mettant en œuvre la formation de figures de myéline, permettent, par extrapolation, de concevoir ce qui se passe avec les lipides en phase dispersée. Il est admis que les associations artificielles phosphatides autres lipides (glycérides, cholestérol, etc.) se trouvent constituées par une double couche de lipides, séparée par des couches de plusieurs molécules d'eau [13,

29]. Dans chaque couche lipidique, les molécules se trouvent côte à côte, leurs groupements polaires se trouvant orientés vers l'eau et leurs chaînes aliphatiques faisant face à celles de la couche voisine. Une telle association nécessite la présence d'eau, qui représente un véritable constituant structural de l'association.

Ces associations artificielles se conduisent absolument comme les associations naturelles : les unes et les autres ne cèdent pas leurs constituants à l'éther [26, 92, 49], sauf si la température se trouve très fortement abaissée (— 70°) [66, 25, 26].

Dervichian [28] conclut que les micelles lipidiques, dans lesquelles les divers lipides unis par des forces de Van der Waals peuvent être considérés comme un tout, se trouvent fixées par des liaisons ioniques à la molécule de protéine.

Cette conception nouvelle n'explique pas à priori certaines constatations. Comment se fait-il donc que les savons naturels, qui sont ionisés négativement, puissent prendre la place des lécithines unies aux protéines par un groupe positif ? Comment se fait-il que les savons cationiques, qui devraient aisément prendre la place des phosphatides, ne décollent que le cholestérol ? Si l'union entre protéines et phosphatides est ionique, comment se fait-il alors que, dans un champ électrique (électrophorèse), les deux constituants migrent ensemble ?

Toutes ces questions ont trouvé des réponses satisfaisantes.

Les recherches de Schwert, Putnam et Briggs [106] ont prouvé que des interactions entre protéines et lipides pouvaient fort bien avoir lieu même lorsque les deux constituants présentaient la même charge; la condition nécessaire est l'existence de groupes ionisés opposés à ceux de la charge globale [95, 96, 92]; ceci est le cas pour les protéines et pour les phospholipides. Dervichian [28] démontre que l'interaction serait localisée en réalité aux

ions positifs de la protéine que peuvent approcher quelques molécules de la micelle lipidique; il y aurait en quelque sorte interaction, non plus entre les groupes négatifs de la protéine et les groupes positifs « lécithiniques » de la micelle, mais entre des groupements positifs de la protéine et des groupes négatifs du phospholipide. On concevrait alors très bien que les savons anioniques puissent se substituer à la micelle lipidique et « décoller » à la fois phosphatides et cholestérol. On comprendait encore que les savons cationiques ne puissent pas se substituer de la même façon et présentent une action icélomorphe comparable à celle des saponosides, car il est très possible que les chaînes de ces derniers savons se présentent stériquement sous l'aspect polycyclique des stérols (Polonovski [92]). L'hypothèse émise jadis par Tayeau [129] concernant le rôle d'intermédiaire joué par les lécithines entre les protéines et les autres substances lipidiques, cholestérol en particulier, se trouve ainsi confirmée.

Pour expliquer qu'à l'électrophorèse les lipides accompagnent les protéines dans leur migration, il faut faire appel aux recherches de Hartley, Collie et Samis [46] : ces auteurs préparent une association ionique brome-détergent, en l'occurrence du bromure de cétyl-pyridinium, et montrent que la quantité de brome transportée dans un champ électrique dans la direction normale est minime par rapport à celle transportée dans la direction inverse. Dervichian estime d'ailleurs que les conditions sont encore plus nettes en ce qui concerne les lipoprotéines naturelles, puisqu'au *p*H où s'effectue habituellement l'électrophorèse, les protéines et les micelles lipidiques présentent des charges globales de même signe.

### III. — Autres types de cénapses

On peut se demander si toutes les cénapses lipido-protéidiques du sérum sanguin se trouvent édifiées suivant ce modèle. Il est possible que d'autres types de lipo-

protéines existent; c'est peut-être le cas en particulier pour les cénapses acido-précipitables, isolées du sérum de cheval par Machebœuf [68]. Les recherches de Gorter et Hermans [42] (mesures d'étalement en lame mince) et de Tayeau [128] (courbes d'électrotitration) ont montré l'absence de liaisons ioniques dans ces cénapses.

Mentionnons encore que tout le cholestérol sérique ne rentre pas dans des associations lipido-protéidiques : si, en effet, on précipite d'un sérum la totalité des protéines, on constate que du cholestérol reste en solution (Blass, Springel et Machebœuf [10]). On peut penser qu'il se trouve à l'état de complexes lipides-polypeptides, dont l'existence a pu être démontrée (Tayeau et Breton [135]). Signalons encore à ce sujet qu'il existe des complexes ioniques lécithines-aminoacides (Polonovski et coll. [99]).

### IV. — Biogenèse des cénapses lipido-protéidiques

Aucune recherche, à notre connaissance, n'a encore été réalisée sur ce sujet. Cependant, Machebœuf a émis une hypothèse reposant sur la synthèse *in vitro* des lipoprotéines.

Machebœuf [70] pense que les cénapses doivent se former grâce à la présence d'un intermédiaire favorisant l'union des constituants. Cet intermédiaire interviendrait dans un premier temps pour former avec les lipides des complexes hydrosolubles susceptibles d'entrer en contact avec les protéines; dans un deuxième temps, cet intermédiaire s'éliminerait en laissant des cénapses stables. Les sels biliaires constitueraient ces intermédiaires en raison de leur pouvoir de former avec les lipides des complexes stables hydrophiles [64]. Cette conception est fondée sur les expériences *in vitro* de Machebœuf et Perrimond-Trouchet [74] : ces auteurs ont noté qu'un mélange de savon, de protéines et de sels biliaires, soumis à la dialyse, conduit, après élimination du sel biliaire, à l'obtention de

cénapses protéines-acides gras hydrosolubles se conduisant comme des lipoprotéines sériques.

On peut donc supposer que les lipides provenant de la digestion ou des réserves et arrivant au foie rencontrent des protéines et des sels biliaires; il se formerait alors des associations protéines - sels biliaires - lipides relativement labiles; l'élimination des sels biliaires qui suit laisserait enfin les cénapses lipides-protéines stables.

Tayeau [123] a pu apporter un argument en faveur de cette conception : cet auteur a signalé que le sérum des malades cholalémiques agité avec de l'éther livre à ce solvant une grande partie et parfois même la totalité des lipides sériques; on peut donc penser que dans le sérum des cholalémiques, qui ne peuvent éliminer leurs sels biliaires par la voie normale, on rencontre ces complexes triples instables protéines - sels biliaires - lipides, auxquels nous faisions allusion.

## V. — Le fractionnement des lipoprotéines

Jusqu'en 1940 environ, on ne connaissait qu'une seule technique pratique permettant le fractionnement des protéines sériques, la technique par relargage. Parmi les nombreux sels employés dans ce but, le sulfate d'ammonium restait le plus utilisé (Hofmeister [48]). Ce sel permet de séparer les deux grandes fractions protéidiques, les *globulines* et les *albumines*, les premières étant insolubles et les secondes solubles dans les solutions de sulfate d'ammonium à demi-saturation. Les deux fractions ainsi isolées contiennent toutes sortes de lipides et les substances lipidiques sont à peu près également réparties. La fraction albumine renferme les cénapses acido-précipitables particulièrement riches en lipides.

Plusieurs auteurs ont critiqué cette technique de fractionnement et ont souligné ses imperfections; grâce à des techniques variées, ultracentrifugation (Mc Farlane [65]),

relargage (Hewitt [47]), solubilité (Pérez [9]), mesures de point isoionique (Tayeau et Florentin [136]), ils ont prouvé que les globulines étaient souillées par des albumines et que la fraction albumine contenait de nombreuses globulines. Si cette technique de fractionnement est toujours utilisée en clinique, car elle constitue un excellent test pratique, elle est, en revanche, complètement abandonnée dans le domaine de la recherche pure et cela en raison de l'hétérogénéité des fractions obtenues.

On préfère beaucoup utiliser à présent la technique d'électrophorèse (Tiselius) qui permet d'obtenir des résultats beaucoup plus fidèles et surtout des fractions plus homogènes.

Grâce à cette technique, on peut fractionner le sérum en albumine et en globulines $\alpha$, $\beta$ et $\gamma$. Grâce à la technique de révélation des lipides [105], on peut sur ces diverses fractions localiser les substances lipidiques; on s'aperçoit alors que ces dernières ne sont pas uniformément réparties comme on l'avait cru, mais qu'elles sont localisées, dans le cas du cheval par exemple, sur la fraction albumines et sur la fraction $\beta$ globulines; signalons à ce sujet que les cénapses acidoprécipitables qui, par la technique de relargage, se conduisent comme des albumines migrent à l'électrophorèse avec les $\beta$ globulines [71].

Plusieurs auteurs mettant en œuvre des techniques variées [44, 32, 43] ont étudié les diverses substances lipidiques migrant avec les fractions protéidiques.

Les avis sont quelque peu partagés, mais tous sont d'accord pour reconnaître la particulière richesse en lipides de la fraction $\beta$ globulines.

Cette constatation n'est pas propre au sérum humain, mais se retrouve dans le sang des divers animaux que nous avons étudiés (voir chapitre III de la deuxième partie).

# CHAPITRE II

## LES FORMES DU CHOLESTÉROL SÉRIQUE

Dans le sérum sanguin, le cholestérol se trouve sous deux formes, libre et estérifié. Ces deux formes répondent à un certain équilibre variant suivant les espèces; pour une espèce donnée, cet équilibre oscille dans des limites assez étroites. Voici quelques valeurs du rapport cholestérol libre/cholestérol estérifié dans diverses espèces [90] :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Homme ..... | 0,50 | Bœuf ..... | 0,47 |
| Cheval ..... | 0,47 | Porc ..... | 0,49 |
| Chien ..... | 0,52 | Mouton ..... | 0,46 |

Les premières recherches sur la transformation des esters du cholestérol en cholestérol libre ont été réalisées par Kondo [54] : cet auteur a noté que, dans le foie soumis à l'autolyse, les esters du cholestérol diminuent tandis que le cholestérol libre augmente. Kondo conclut que le foie renferme un ferment saponifiant les esters du cholestérol. Par la suite, cette propriété est reconnue au pancréas, à l'intestin (Abderhalden et Weil [1]), à la rate, au rein (Nomura [88]) et à divers sucs digestifs (Thannhauser [145]). Il semble que le ferment soit également capable de catalyser la réaction inverse (transformation du cholestérol en esters) si l'on en croit les travaux de Forscher [41] sur le pancréas.

Le sang retient très peu l'attention dans ce domaine, car Schultz [104], dont la notoriété est grande à cette époque, ne constate aucune hydrolyse des stérides au cours de l'autolyse sanguine. Ce fait, mis en doute par les travaux de Cytronberg [23], se trouve néanmoins confirmé par Mueller [83], Nomura [88] et Thannhauser [145]. La plupart de ces résultats discordants s'expliquent par le manque de précision des techniques mises en jeu pour l'évaluation des deux formes de cholestérol.

Schœnheimer et Sperry [102] décrivent une méthode permettant le dosage précis du cholestérol libre : cela permet à Sperry de reprendre sur une base nouvelle les recherches concernant le cholestérol du sérum sanguin.

### I. — La cholestérolestérase sérique

Sperry [110, 111] constate que, si l'on place du sérum à l'étuve à 37° et pendant trois jours, le cholestérol estérifié augmente aux dépens du cholestérol libre.

Le phénomène ne se produit plus lorsque le sérum a été préalablement chauffé à 56° pendant une heure. Cette constatation conduit Sperry à penser que l'estérification est due à un enzyme, auquel il donne le nom de *cholestérol-estérase*. L'optimum d'action de cet enzyme se situe aux environs de *p*H 8.

Sperry et Stoyanoff [112] mettent en évidence le rôle inhibiteur exercé sur la réaction par les sels biliaires; ils remarquent encore le comportement un peu particulier du sérum de chien, dont la cholestérolestérase se trouve inhibée, comme celle des autres espèces, par de petites doses de sels biliaires, mais activée et orientée en sens inverse (sens de l'hydrolyse) par de fortes doses (plus grandes que 3,6 mM p. 100). Ce phénomène qui, selon Sperry et Stoyanoff, ne se produit pas avec le sérum humain, a pourtant été signalé par Nguyen van Thoai [86].

Quoi qu'il en soit et hormis le cas particulier du chien,

tous les auteurs tombent d'accord pour reconnaître l'existence de la cholestérolestérase sanguine et son inhibition par les sels biliaires.

Tout laisserait penser que la cholestérolestérase sanguine est absolument identique à la cholestérolestérase du pancréas. Cependant, deux différences essentielles semblent les séparer : tandis que la cholestérolestérase sérique est, nous venons de le voir, inhibée par les sels biliaires, la cholestérolestérase pancréatique est au contraire activée par ces substances; bien plus, les sels biliaires s'avèrent nécessaires à son activité (Nedzvetzkii [85]) ! Par ailleurs, la cholestérolestérase du pancréas semble agir surtout dans le sens de l'hydrolyse.

Pour rendre compatibles ces deux constatations, plusieurs conceptions s'affrontent : Klein [52] croit à l'existence de plusieurs cholestérolestérases différentes : l'une (type hépatique) présente un optimum d'action à *p*H 5,3 et se trouve inhibée par les sels biliaires; une autre (type pancréatique) agit surtout entre *p*H 6,5 et 8,7 (entre 6,8 et 7,4 selon Nguyen van Thoai [86]) et se trouve au contraire activée par les sels biliaires; ces deux enzymes exerceraient un effet hydrolytique; une autre (celle du sérum) catalyserait la réaction dans le sens de l'estérification.

De leur côté, Schramm et Wolf [103] décrivent deux groupes d'enzymes : ceux exerçant un effet hydrolysant, de localisation intracellulaire (type hépatique), ceux exerçant au contraire un effet synthétisant et agissant dans les espaces extracellulaires (type sérum ou pancréas). Salviano et Beccari [100] se rangent à un point de vue à peu près identique (*).

C'est alors que paraissent les travaux de M^lle^ Le Breton et Pantaléon, qui marquent une importante date dans l'histoire de la cholestérolestérase.

---

(*) Signalons que la cholestérolestérase a été mise en évidence dans le foie [54], dans le pancréas [1], dans l'intestin [87, 114, 37], le tissu adipeux [101] et la peau [89]. On l'a rencontrée également chez des insectes [21] et des bactéries [50].

## II. — Cholestérolestérase et lécithase

M[lle] Le Breton et Pantaléon [40] étudient tout d'abord la cholestérolestérase pancréatique et mettent un terme aux contradictions concernant le sens de la réaction catalysée par cet enzyme. Ils montrent, en effet, que ce sens est différent suivant que l'on s'adresse à l'extrait total de pancréas ou au suc pancréatique recueilli par fistule : le premier fait évoluer la réaction dans le sens de l'hydrolyse, le second dans le sens de l'estérification. Dans un cas comme dans l'autre, l'enzyme est activé par les sels biliaires. M[lle] Le Breton et Pantaléon expliquent cette action différente par la présence dans le suc pancréatique seulement d'un facteur capable de libérer les acides gras nécessaires à l'estérification du cholestérol. Ce facteur est une *lécithase B* qui catalyse l'hydrolyse de la lécithine en deux acides gras et en glycérophosphate de choline.

L'estérification du cholestérol dans l'intestin se trouve donc conditionnée par l'action de la lécithase B pancréatique, qui décompose les lécithines en fournissant les acides gras nécessaires à la synthèse des stérides. Cette réaction se trouve inhibée par l'hémolysat de globules rouges, le phloridzoside et le monobromacétate (M[lle] Le Breton et Pantaléon [59]).

Les auteurs portent alors leur attention sur le sérum sanguin. Après avoir vérifié l'exactitude des résultats publiés par Sperry et ses collaborateurs et précisé quelques points supplémentaires, notamment la zone d'activité de la cholestérolestérase sérique (de *p*H 5,5 à *p*H 9,5 avec un optimum d'action à 7,8), M[lle] Le Breton et Pantaléon démontrent que les acides gras permettant l'estérification du cholestérol sont également fournis, ici aussi, par la décomposition des lécithines sous l'influence d'une lécithase B. Une étude systématique sur les phospholipides et le cholestérol sériques montre que la décomposition des

lécithines évolue parallèlement à la synthèse des stérides (fig. 1) [90]. Ils notent que la réaction est non seulement

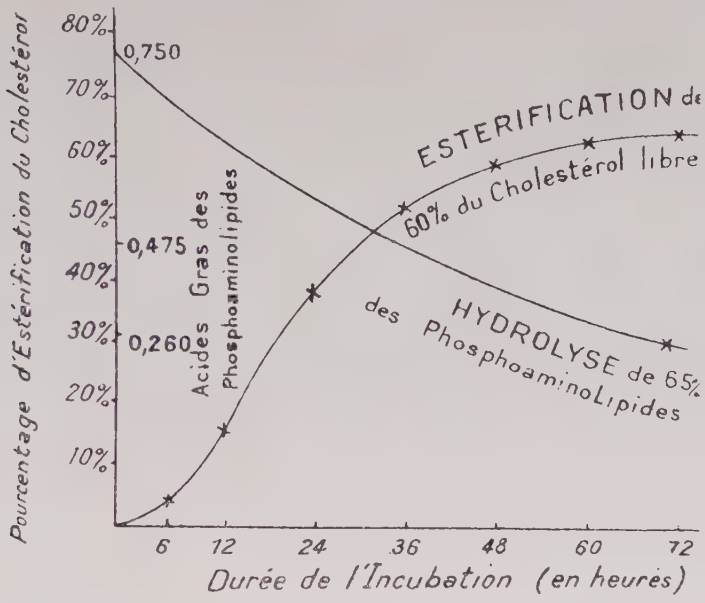



Fig. 1.

Courbes représentatives des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol et du degré d'hydrolyse des phospho-amino-lipides en fonction de la durée d'incubation. D'après Pantaléon [90].

inhibée par les sels biliaires et l'hémolysat d'hématies (comme l'avaient constaté Sperry et Stoyanoff), mais encore par le monobromacétate, le phloridzoside et le thymol; ces trois derniers seraient surtout des inhibiteurs de la lécithase.

Le problème de la cholestérolestérase sérique semblait résolu lorsque paraissent les travaux de Swell, Treadwell et collaborateurs.

### III. — Mise en doute de la cholestérolestérase sérique

Treadwell et coll. [152, 117] réalisent tout d'abord une étude systématique de la cholestérolestérase pancréatique, dont ils déterminent le *p*H optimum d'activité (6,6 lorsque l'enzyme agit dans le sens de l'hydrolyse, 6,2 dans le sens de l'estérification) ; ils mettent en évidence la vitesse de la réaction catalysée par cet enzyme et insistent sur ce point.

Ils portent ensuite leur attention sur le sérum de diverses espèces. Ils notent que le sérum de chien se conduit comme le suc pancréatique et qu'il contient une cholestérolestérase identique : même *p*H d'action, vitesse de réaction comparable. Ils précisent cette donnée en montrant que probablement la cholestérolestérase sanguine provient du pancréas, car le sérum du chien pancréatectomisé perd son pouvoir d'estérifier le cholestérol (Swell et Kramer [116]). Le sérum sanguin des autres espèces étudiées (homme, rat, lapin, cobaye) se conduit très différemment de celui du chien ; le *p*H optimum d'action de l'estérification du cholestérol est différent ; la réaction est lente et les sels biliaires n'agissent pas de la même façon. De plus, si l'on ajoute à du sérum d'homme, par exemple, un excès de substrat, en l'occurrence du cholestérol et de l'acide oléique, la quantité de cholestérol estérifié après incubation à 37° est absolument la même que sans addition de substrat. Seul le cholestérol « naturel » du sérum est capable d'être estérifié. Swell et Treadwell concluent que les sérums d'homme, de rat, de lapin et de cobaye ne comportent pas de cholestérolestérase et que l'estérification du cholestérol représente tout simplement un phénomène physico-chimique lié à l'état de dispersion de cet alcool au sein du sérum. Swell et Treadwell expliquent les actions de la chaleur (chauffage une heure à 60°) et de la dilution qui, modifiant cet état de dispersion du cholestérol, empêchent son estérification.

Il est intéressant de rapprocher de cette conception les recherches de Wagner et Kogalski [150] : ces auteurs ont signalé que l'addition de lécithine au sérum amène au contraire une augmentation du taux d'estérification du cholestérol. Si donc l'existence de la cholestérolestérase peut être mise en doute, il n'en est pas de même de celle de la lécithase qui semble réellement exister.

C'est à la suite de ces travaux réalisés par Swell, Treadwell et coll. que nous avons été amené à nous intéresser à ce problème. Nous avons repris l'étude des sels biliaires en tant qu'inhibiteurs; nous avons découvert l'effet inhibiteur exercé par les saponosides et nous avons étudié parallèlement les modifications des associations lipido-protéidiques et celles de l'estérification du cholestérol, les deux grandes questions ayant fait l'objet de cette étude historique.

# DEUXIÈME PARTIE

## RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

# CHAPITRE PREMIER

## LE POUVOIR INHIBITEUR DES SELS BILIAIRES VIS-A-VIS DE L'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL SÉRIQUE

Nous avons rappelé dans le chapitre II de la première partie les observations de Sperry et Stoyanoff [112] : le sérum additionné de sels biliaires (4 p. 1.000 de glycocholate de sodium) n'est plus capable, après incubation à l'étuve (soixante-douze heures à 37°), d'estérifier son cholestérol libre. Sperry et Stoyanoff concluent que les sels biliaires constituent des inhibiteurs de la cholestérolestérase.

Pour expliquer ce pouvoir inhibiteur, M^lle^ Le Breton et Pantaléon [59] admettent qu'en présence de sels biliaires, les protéines du milieu captent les acides gras libérés par l'hydrolyse enzymatique des lécithines et, suivant leur expression, les « mettent hors circuit » ; on conçoit ainsi que le cholestérol ne puisse plus être estérifié, en raison de l'effet concurrent exercé par les protéines du milieu vis-à-vis du cholestérol.

C'est pour étudier cette hypothèse proposée par M^lle^ Le Breton et Pantaléon que nous avons repris l'étude du pouvoir inhibiteur exercé par les sels biliaires sur l'estérification du cholestérol sérique.

Pour rendre nos observations aussi nettes que possibles,

nous n'avons pas mis en œuvre des protéines sériques « natives », c'est-à-dire des lipoprotéines; nous avons utilisé des protéines préalablement privées des lipides fixés sur elles (*) : on sait, en effet, que les fractions protéidiques privées de leurs lipides présentent un « pouvoir fixateur » beaucoup plus élevé que les mêmes fractions non délipidées (Tayeau et Rolland [144]).

Après avoir vérifié le pouvoir inhibiteur des sels biliaires et précisé quelques points de leur action, nous étudions dans ce chapitre l'estérification du cholestérol au cours de l'incubation du sérum en présence de sels biliaires et de sérum délipidé.

Dans tous nos essais, nous avons dosé le cholestérol total (**) et le cholestérol libre (***); la différence entre les deux chiffres représente le cholestérol estérifié.

Avant d'aborder les expériences essentielles de ce chapitre, nous avons voulu vérifier les résultats de Sperry et Stoyanoff [112], puis ceux de M^lle^ Le Breton et Pantaléon [60], afin de préciser, pour nos conditions expérimentales, les quantités de sels biliaires à mettre en jeu pour obtenir une inhibition du phénomène. Nous avons estimé opportun de réaliser ces essais en raison des discordances qui existent entre les résultats des auteurs concernant les quantités de sels biliaires à mettre en œuvre [60, 137] et aussi le taux d'estérification du cholestérol au cours de l'incubation [118].

---

(*) Pour « délipider » le sérum, nous avons mis en jeu la technique de Hardy et Gardiner [45], qui consiste à épuiser les lipoprotéines avec de l'alcool absolu, puis avec de l'éther anhydre à une température inférieure à — 10°. Dans ces conditions les protéines conservent leurs propriétés physico-chimiques (Sœrensen [108]).

(**) Pour le dosage du cholestérol total, nous épuisons le produit avec de l'alcool et de l'éther bouillant suivant la technique de Kumagawa-Suto [55]; le résidu d'évaporation des liquides alcoolo-éthérés est repris par le chloroforme. C'est enfin sur le résidu chloroformique qu'est pratiqué le dosage colorimétrique du cholestérol (lectures effectuées au diffuso-absorptiomètre de Dognon).

(***) Le cholestérol libre est dosé sur l'extrait lipidique par pesée du complexe cholestérol-digitonoside (technique de Windaus-Caminade [151, 14]).

## I. — Etude quantitative du pouvoir inhibiteur des sels biliaires

Nous avons préparé dix échantillons de sérum de cheval frais : le premier sert de témoin, le second reçoit 0,001 p. 1.000 de taurocholate de sodium, le troisième 0,01 p. 1.000, le quatrième 0,05 p. 1.000, le cinquième 0,10 p. 1.000, le sixième 0,25 p. 1.000, le septième 0,50 p. 1.000, le huitième 1 p. 1.000, le neuvième 2 p. 1.000 et le dixième 4 p. 1.000 (*). Le premier échantillon est divisé

TABLEAU I

| Echantillons n° | Taurocholate de sodium (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|
| 1 (non incubé) | 0 | 1,08 | 0,36 | 0 |
| après incubation | 0 | 1,01 | 0,14 | 61 |
| 2 | 0,001 | 1,02 | 0,10 | 72 |
| 3 | 0,01 | 1,06 | 0,12 | 66 |
| 4 | 0,05 | 1,06 | 0,10 | 72 |
| 5 | 0,10 | 1,06 | 0,13 | 63 |
| 6 | 0,25 | 1,05 | 0,15 | 58 |
| 7 | 0,50 | 1,05 | 0,18 | 50 |
| 8 | 1 | 1,05 | 0,26 | 27 |
| 9 | 2 | 1,06 | 0,32 | 11 |
| 10 | 4 | 1,06 | 0,34 | 5 |

(*) Le sel biliaire était directement dissous dans le sérum, afin d'éviter l'effet de dilution (voir p. 22).

en deux parties : l'une est laissée à la température de + 4°, tandis que l'autre, mise en ampoule aseptiquement, est placée à l'étuve à 37° pendant soixante-douze heures. Tous les autres échantillons sont placés à l'étuve à 37° pendant soixante-douze heures. Nous avions pris soin de vérifier préalablement que l'addition de sel biliaire, sans séjour à l'étuve, ne modifie nullement le taux du cholestérol libre.

Les résultats de nos dosages, effectués toujours en double exemplaire, se trouvent consignés dans le tableau I. A ce tableau correspond la courbe de la figure 2.

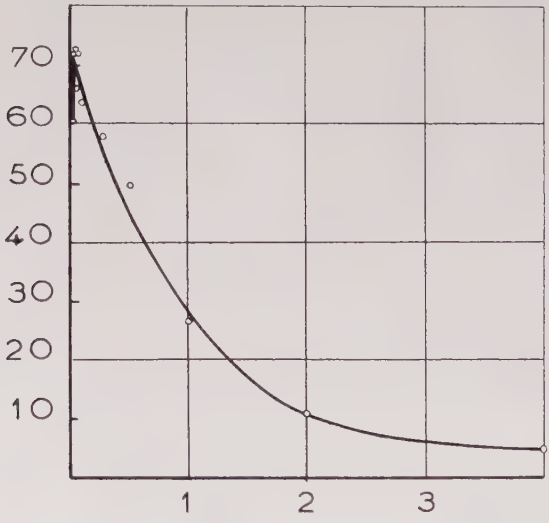



Fig. 2.

Courbe représentative des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol après incubation en fonction de la concentration en sels biliaires ajoutés au sérum (p. 1.000).

Cette première expérience montre un phénomène que nous avons toujours observé : le léger pouvoir activateur de doses minimes de sels biliaires sur l'estérification du cholestérol. Pour constater un début d'inhibition, il faut au moins mettre en œuvre 0,25 p. 1.000 de taurocholate de sodium. D'après la courbe, le maximum d'inhibition

apparaît lorsque la concentration en sel biliaire atteint le taux de 2,5 p. 1.000. Nous avons vérifié l'exactitude de cette valeur au cours d'autres expériences (voir p. 33). Ce chiffre se montre inférieur à celui mentionné par M^lle^ Le Breton et Pantaléon; ces auteurs indiquent, en effet, le taux de 4 p. 1.000 (glycocholate); cette différence est probablement liée à la nature du sel biliaire mis en œuvre. Le taux d'estérification du cholestérol qui, dans cet essai, atteint 61 p. 100 est tout à fait conforme aux chiffres indiqués par M^lle^ Le Breton et Pantaléon. Signalons toutefois que, dans certaines de nos expériences, nous avons obtenu des taux d'estérification nettement plus élevés, de l'ordre de 80 p. 100 (voir p. 33).

### II. — Vitesse de la réaction

Il importe de noter que l'estérification du cholestérol au cours de l'incubation constitue une réaction relativement lente; c'est là une notion à laquelle nous avons déjà fait allusion dans notre étude historique et qui s'oppose à la vitesse avec laquelle s'effectue l'estérification du cholestérol dans l'intestin sous l'influence de la cholestérolestérase pancréatique. Les essais que nous rapportons ci-dessous mettent bien en évidence cette lente évolution de la réaction. Ils montrent encore que les sels biliaires interviennent en « captant » l'un des substrats de l'estérification du cholestérol (cholestérol ou acide gras) et non en modifiant simplement l'équilibre de la réaction.

Les expériences que nous avons réalisées ont consisté à placer à l'étuve à 37° cinq échantillons d'un même sérum (cheval); le premier échantillon était additionné de sels biliaires (2,1 p. 1.000); après un certain temps d'incubation, l'échantillon n° 2 était additionné de la même quantité de sels biliaires; un peu plus tard, l'échantillon n° 3 recevait à son tour les sels biliaires et ainsi de suite. Avant chaque addition, le cholestérol total et le cholestérol libre

étaient déterminés. Après soixante-douze heures, les mêmes dosages étaient réalisés dans tous les échantillons.

Les résultats que nous avons obtenus dans l'une de nos expériences se trouvent groupés dans le tableau II. Ces résultats mettent bien en évidence le fait que l'estérification du cholestérol constitue un phénomène graduel au cours

TABLEAU II

| Temps (en heures) après lequel les sels biliaires ont été ajoutés | Cholestérol total | | Cholestérol libre | | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre. | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | avant l'addition de sels biliaires | après l'incubation | avant l'addition de sels biliaires | après l'incubation | avant l'addition de sels biliaires | après l'incubation |
| 0 | 0,90 | 0,92 | 0,15 | 0,14 | 0 | 6 |
| 17 | 1,02 | 1,01 | 0,10 | 0,10 | 33 | 33 |
| 23 | 1,00 | 0,86 | 0,09 | 0,09 | 40 | 40 |
| 47 | 1,22 | 1,00 | 0,07 | 0,06 | 53 | 60 |
| 72 | 0,90 | 0,87 | 0,03 | 0,03 | 80 | 80 |

des soixante-douze heures d'incubation et que l'addition de sels biliaires « stoppe » cette estérification; plus le sel biliaire est ajouté tardivement, moins son effet s'avère efficace. Si les sels biliaires avaient simplement modifié l'équilibre de la réaction, le pourcentage d'estérification aurait probablement atteint, en fin d'opération, une valeur identique dans presque tous les cas.

### III. — Action des sels biliaires en présence de sérum

Après avoir ainsi précisé les modalités du phénomène, nous avons réalisé une nouvelle série d'expériences au cours de laquelle nous avons étudié parallèlement l'influence exercée par les sels biliaires sur l'estérification du

cholestérol en présence et en l'absence de sérum délipidé. Nous avons étudié également l'influence du sérum délipidé seul.

Dans l'essai mettant en œuvre les sels biliaires et le

TABLEAU III

| | Sérum délipidé ($cm^3$ p. litre) | Tauro-cholate de sodium (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|---|
| Témoin laissé à + 4° | 0 | 0 | 0,62 | 0,18 | 0 |
| Incubation à l'étuve à 37° pendant 72 heures | ..... | 0 | 0,61 | 0,03 | 82 |
| | ..... | 0,50 | 0,60 | 0,04 | 77 |
| | ..... | 0,75 | 0,60 | 0,09 | 50 |
| | ..... | 1,00 | 0,59 | 0,10 | 44 |
| | ..... | 1,50 | 0,60 | 0,14 | 22 |
| | ..... | 2,25 | 0,62 | 0,16 | 11 |
| | ..... | 2,50 | 0,63 | 0,16 | 11 |
| | ..... | 3,25 | 0,62 | 0,16 | 11 |
| | 50 | 0 | 0,62 | 0,03 | 82 |
| | 50 | 0,33 | 0,64 | 0,16 | 11 |
| | 50 | 0,66 | 0,62 | 0,16 | 11 |
| | 50 | 1,00 | 0,59 | 0,17 | 5,5 |
| | 50 | 1,65 | 0,62 | 0,18 | 3,0 |
| | 50 | 2,00 | 0,63 | 0,17 | 5,5 |
| | 50 | 2,50 | 0,62 | 0,17 | 5,5 |
| | 0 | 0 | 0,61 | 0,03 | 82 |
| | 18 | 0 | 0,60 | 0,03 | 82 |
| | 40 | 0 | 0,60 | 0,04 | 77 |
| | 45 | 0 | 0,60 | 0,03 | 82 |
| | 50 | 0 | 0,60 | 0,04 | 77 |

sérum délipidé, nous ajoutions ces deux réactifs préalablement laissés en contact pendant deux heures, temps nécessaire à la formation du complexe protéines-sel biliaire (Tayeau et Blanquet [134]).

Nos résultats se trouvent réunis dans le tableau III. Ces résultats, auxquels correspondent les courbes de la figure 3,

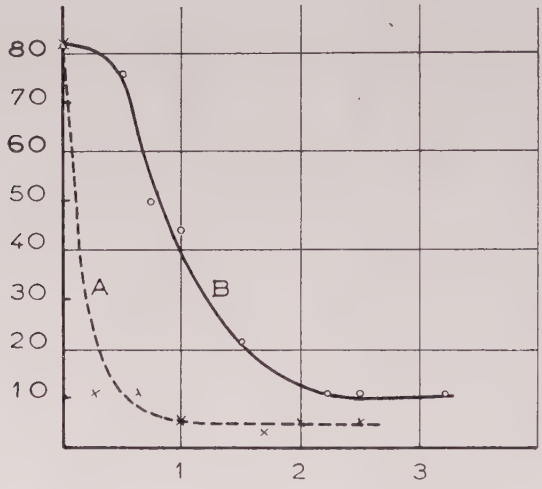



Fig. 3.

Courbes représentatives des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol après incubation en fonction de la concentration en sels biliaires (p. 1.000), en présence (A) ou en l'absence (B) de sérum délipidé.

montrent qu'en présence de sérum délipidé, l'effet des sels biliaires se trouve nettement accru; ceci peut s'expliquer par le pouvoir de fixation élevé exercé par les protéines privées de lipides sur les acides gras qui, normalement, auraient dû estérifier le cholestérol. Ce résultat apporte donc un argument en faveur des conceptions de M[lle] Le Breton et Pantaléon, auxquelles nous avons fait allusion au début de ce chapitre.

Il ressort encore de ces expériences que les sels biliaires s'avèrent nécessaires à la synthèse de cénapses protéines-

acides gras, puisqu'en l'absence de taurocholate, le sérum délipidé n'exerce aucun effet. Cette constatation se trouve encore en parfait accord avec les conceptions de Machebœuf et Perrimond-Trouchet. Ces auteurs ont montré que les sels biliaires constituaient l'intermédiaire nécessaire à la synthèse des cénapses protéines-acides gras : si, en effet, on soumet à la dialyse un mélange de protéines, de savon alcalin et de sels biliaires, ce dernier composé s'élimine peu à peu et laisse des cénapses protéines-acides gras dont le comportement physico-chimique est très comparable aux lipoprotéines sériques (voir p. 14).

Il importe d'étudier encore le phénomène quantitativement : nos expériences montrent qu'il existe une concentration minimum en sel biliaire pour laquelle leur effet inhibiteur est maximum : pour le taurocholate de sodium, cette concentration est voisine de 2,5 p. 1.000; or, en présence de protéines « délipidées », elle n'est plus que de 0,65 p. 1.000 (fig. 3).

Il est délicat d'expliquer ce phénomène. Nous proposerons néanmoins une interprétation. Dans le premier cas (action des sels biliaires seuls), nous supposons que le taurocholate pénètre dans la couche d'eau structurale de la micelle lipidique et modifie ainsi l'état de dispersion du cholestérol; il se formerait alors des complexes cholestérol-sel biliaire; nous constatons que, dans ces conditions, le rapport cholestérol/sel biliaire est de 4 environ; cela ne doit pas nous étonner : on sait, en effet, par les travaux de Dervichian et M^lle^ Magnant [30] que le constituant soluble du complexe (cas du sel biliaire) doit être environ quatre fois plus abondant que le constituant insoluble pour que le complexe puisse se trouver à l'état de dispersion. Le cholestérol ayant ainsi changé d'état ne peut plus être estérifié.

A la lumière de cette constatation, on peut penser que le « captage » des acides gras par les protéines (conception de M^lle^ Le Breton et Pantaléon) n'est peut-être pas la seule

explication plausible du pouvoir inhibiteur des sels biliaires. On peut admettre que ces substances interviennent aussi en modifiant l'état de dispersion du cholestérol sérique et en empêchant ainsi son estérification. Il nous semble opportun de rapprocher cette conception des constatations de Swell et Treadwell, auxquelles nous avons fait précédemment allusion : ces auteurs ont noté, en effet, que l'addition de cholestérol et d'acide oléique à du sérum ne modifie nullement, au cours de l'incubation, la quantité de cholestérol estérifié; seul le cholestérol « naturel », à l'état d'associations lipido-protéidiques, peut être estérifié. Le cholestérol ajouté par Swell et Treadwell, comme le cholestérol à l'état de complexes cholestérol-sels biliaires, ne peut plus être estérifié.

En présence de sérum délipidé, le phénomène doit faire l'objet d'une autre interprétation; ainsi que nous l'avons signalé, les sels biliaires ont été ajoutés à l'état de complexes protéines-sels biliaires [134]. On peut alors penser qu'une réaction du type *icélomorphe* se produit entre les sels biliaires et le cholestérol, car la quantité molaire de sel biliaire nécessaire à l'estérification du cholestérol est identique au taux molaire de cet alcool dans le sérum. Ici encore, le cholestérol change d'état et échappe à l'estérification.

Nos expériences apportent à la fois des arguments en faveur des conceptions de M^lle^ Le Breton et Pantaléon et des conclusions de Swell et Treadwell.

Nos résultats prouvant que les sels biliaires exercent vis-à-vis de l'estérification du cholestérol sérique un pouvoir inhibiteur beaucoup plus élevé, lorsqu'ils se trouvent à l'état de complexes protéines-sels biliaires, permettent d'expliquer certains symptômes pathologiques sur lesquels subsistent encore des doutes. Dans le sérum des malades cholalémiques, l'estérification du cholestérol au cours de l'incubation est minime ou nulle (Klein [52], Bénard et coll. [9], Turner et Pratt [148], Alkalay et Favarger [3],

Favarger [36]) ; Klein pense que la seule présence des sels biliaires permet d'expliquer cette constatation. Quelques auteurs [8, 17] ont cependant mis en doute cette conclusion de Klein [52] approuvée par Favarger [36] ; ils fondent leur conclusion sur l'argument suivant : pour obtenir l'inhibition de la cholestérolestérase, il faut ajouter au sérum une quantité de sels biliaires de l'ordre de 4 p. 1.000 selon Pantaléon [90], 2,5 p. 1.000 selon nos expériences [138] ; or, les cholalémies les plus élevées atteignent tout au plus une concentration de 0,15 p. 1.000 [38, 17] ! Il faut signaler à ce sujet que, chez les cholalémiques, les sels biliaires ne se trouvent jamais à l'état libre, mais sont fixés en réalité sur les protéines; or, à l'état de complexes avec les protéines, les sels biliaires exercent un effet inhibiteur notablement plus élevé vis-à-vis de l'estérification du cholestérol. L'argument invoqué perd donc sa valeur et nous admettons que les sels biliaires sont bien responsables de la diminution du pouvoir estérifiant du sérum vis-à-vis de son cholestérol chez certains cholalémiques.

### Conclusions du chapitre premier

Dans ce chapitre, nous avons montré que l'effet inhibiteur exercé par les sels biliaires sur l'estérification du cholestérol sérique au cours de l'incubation (soixante-douze heures à 37°) est beaucoup plus accentué en présence de sérum délipidé. La discussion du phénomène nous a conduit à étayer à la fois les conceptions de M[lle] Le Breton et Pantaléon et les conclusions de Swell et Treadwell. Nos observations ont permis en outre d'expliquer la diminution du pouvoir estérifiant (vis-à-vis du cholestérol) observé avec les sérums des ictériques.

# CHAPITRE II

## LE POUVOIR INHIBITEUR DES SAPONOSIDES VIS-A-VIS DE L'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL SÉRIQUE

Pour expliquer l'effet inhibiteur exercé par les sels biliaires sur l'estérification du cholestérol sérique, nous avons émis une hypothèse : nous avons pensé que les sels biliaires agissaient en modifiant l'état de dispersion du cholestérol; cette conception nous était suggérée par les recherches de Tayeau [122], ayant montré que les sels biliaires peuvent, dans certaines conditions, « décoller » des protéines le cholestérol sérique et, par conséquent, modifier son état de dispersion.

Nous nous sommes alors demandé si les saponosides qui agissent, eux aussi, sur l'état du cholestérol sérique (Tayeau [121]) n'exerceraient pas également un effet inhibiteur sur l'estérification du cholestérol au cours de l'incubation du sérum.

### I. — Action des saponosides sur l'estérification du cholestérol

A cet effet, nous avons réalisé une première série d'essais consistant à étudier l'action exercée par des quantités variées de saponoside sur l'estérification du cholestérol au

cours de l'incubation du sérum. Nous avons mis en œuvre le saponoside extrait de *Sapindus mukorosi* G. [6], celui qui présente l'effet le plus net sur l'extraction du cholestérol sérique par l'éther [133]. Nous avons adopté un mode opératoire identique à celui décrit pour l'étude des sels biliaires.

TABLEAU IV

| Echantillons n° | Saponoside (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|
| 1 (non incubé) | 0 | 0,70 | 0,17 | 0 |
| après incubation | 0 | 0,71 | 0,04 | 74 |
| 2 | 0,001 | 0,68 | 0,02 | 85 |
| 3 | 0,005 | 0,66 | 0,03 | 82 |
| 4 | 0,01 | 0,66 | 0,04 | 77 |
| 5 | 0,05 | 0,66 | 0,05 | 73 |
| 6 | 0,10 | 0,69 | 0,04 | 75 |
| 7 | 1 | 0,68 | 0,05 | 48 |
| 8 | 5 | 0,69 | 0,15 | 11 |
| 9 | 10 | 0,66 | 0,16 | 5 |

Les résultats que nous avons obtenus se trouvent consignés dans le tableau IV auquel correspond la courbe de la figure 4. L'examen de ces résultats montre que le saponoside extrait du *Sapindus* représente un inhibiteur de l'estérification du cholestérol sérique. La courbe est tout à fait comparable à celle de la figure 2, obtenue avec les sels biliaires. Ici également, on remarque que la mise

en jeu de très faibles quantités de réactif amène une activation de l'estérification. Pour des concentrations en saponoside de l'ordre de 5 p. 1.000 environ, l'estérification est presque totalement inhibée.

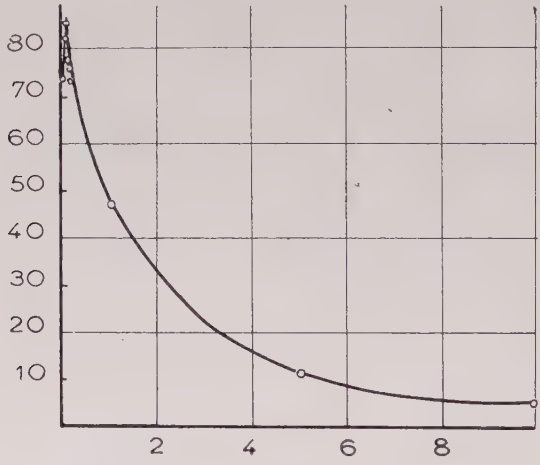



Fig. 4.

Courbe représentative des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol après incubation en fonction de la concentration du milieu en saponoside (p. 1.000).

L'action des saponosides se montre donc tout à fait comparable à celle des sels biliaires; l'activité est cependant deux fois moins intense.

### II. — Action des saponosides en présence de sérum délipidé

Il nous a semblé intéressant de voir si les saponosides allaient, comme les sels biliaires, manifester une activité inhibitrice plus intense en présence de sérum délipidé. A cet effet, nous avons réalisé des expériences, en tous points comparables à celles effectuées avec les sels biliaires. Nous avons étudié l'effet exercé par le saponoside sur

TABLEAU V

| | Sérum délipidé (cm³ p. litre) | Saponoside (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|---|
| Témoin laissé a + 4° | 0 | 0 | 0,90 | 0,22 | 0 |
| Incubation a l'étuve a 37° pendant 72 heures | ..... | 0 | 0,92 | 0,05 | 77 |
| | ..... | 0,38 | 0,86 | 0,05 | 77 |
| | ..... | 0,76 | 0,91 | 0,07 | 68 |
| | ..... | 1,15 | 0,86 | 0,11 | 50 |
| | ..... | 2,30 | 0,91 | 0,15 | 30 |
| | 38 | 0 | 0,91 | 0,05 | 77 |
| | 38 | 0,21 | 0,81 | 0,10 | 54 |
| | 38 | 0,43 | 0,84 | 0,16 | 27 |
| | 38 | 0,65 | 0,86 | 0,17 | 22 |
| | 38 | 1,31 | 0,91 | 0,19 | 13 |

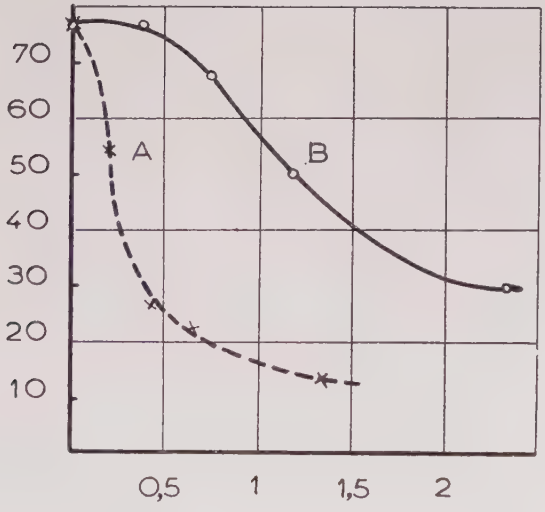



Fig. 5.

Courbes représentatives des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol après incubation en fonction de la concentration du sérum en saponoside (p. 1.000), en présence (A) et en l'absence (B) de sérum délipidé.

l'estérification du cholestérol en présence et en l'absence de protéines délipidées. Nos résultats, auxquels correspondent les courbes de la figure 5, se trouvent consignés dans le tableau V.

Nous retrouvons dans cette expérience le phénomène déjà observé avec les sels biliaires : en présence de sérum délipidé, l'effet inhibiteur se trouve très notablement accru. Ce résultat est encore confirmé par d'autres expériences que nous ne rapportons pas ici. L'interprétation que nous avons proposée pour les sels biliaires est donc susceptible de s'appliquer au saponoside.

### III. — Etude comparative entre l'action des saponosides et celle des sels biliaires

Voulant préciser les rapports quantitatifs qui existent entre l'effet des saponosides et celui des sels biliaires, nous avons réalisé une expérience portant sur le même sérum (cheval) que le précédent essai. Le tableau VI indique les résultats obtenus avec les sels biliaires.

Les courbes de la figure 6 mettent en évidence l'effet des deux inhibiteurs.

Cet essai montre nettement le pouvoir inhibiteur beaucoup plus élevé des sels biliaires.

Si, comme nous l'avons supposé, ces inhibiteurs agissent en formant avec le cholestérol des complexes d'adsorption (*), on conçoit que les saponosides se montrent moins actifs que les sels biliaires, puisqu'une partie seulement de leur molécule présente la structure stérolique.

Afin de vérifier si cette conception correspond à la réalité, nous avons modifié le tableau V en mentionnant non plus le poids de saponoside mis en jeu, mais simplement le poids de l'aglycone; pour cela, nous avons tenu

(*) L'existence de complexes cholestérol-saponoside a été prouvée par Cerf de Mauny [15]. Nous avons effectué également une étude sur les propriétés de ces complexes (Tayeau et Nivet [140]).

compte de l'eau contenue dans le saponoside (2,4 p. 100) et de l'importance de sa copule glucidique (déterminée après hydrolyse par la technique de HAGEDORN-JENSEN; valeur de la copule glucidique : 49 p. 100).

TABLEAU VI

| | SÉRUM DÉLIPIDÉ ($cm^3$ p. litre) | TAUROCHOLATE DE SODIUM (g par litre) | CHOLESTÉROL TOTAL (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE (g par litre) | POURCENTAGE D'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL LIBRE |
|---|---|---|---|---|---|
| TÉMOIN LAISSÉ A + 4° | 0 | 0 | 0,90 | 0,22 | 0 |
| INCUBATION A L'ÉTUVE A 37° PENDANT 72 HEURES | ..... | 0 | 0,92 | 0,05 | 77 |
| | ..... | 0,38 | 0,81 | 0,05 | 77 |
| | ..... | 0,76 | 0,90 | 0,16 | 27 |
| | ..... | 1,15 | ..... | 0,18 | 18 |
| | ..... | 2,30 | 0,89 | 0,20 | 9 |
| | 38 | 0 | 0,91 | 0,05 | 77 |
| | 38 | 0,21 | 0,82 | 0,15 | 30 |
| | 38 | 0,43 | 0,85 | 0,16 | 27 |
| | 38 | 0,65 | 0,90 | 0,18 | 18 |
| | 38 | 1,31 | 0,72 | 0,20 | 9 |

Nous avons également corrigé les chiffres correspondant au taurocholate de sodium en éliminant le sodium et la partie de la molécule appartenant à la taurine. Le tableau VII, qui concerne seulement les résultats relatifs à l'action des complexes saponoside-protéine, pour lesquels nous avons supposé une action icélomorphe, indique les nouvelles valeurs obtenues. Les courbes de la figure 7 correspondent l'une à l'action inhibitrice des complexes protéines-sels biliaires, l'autre à l'action des complexes

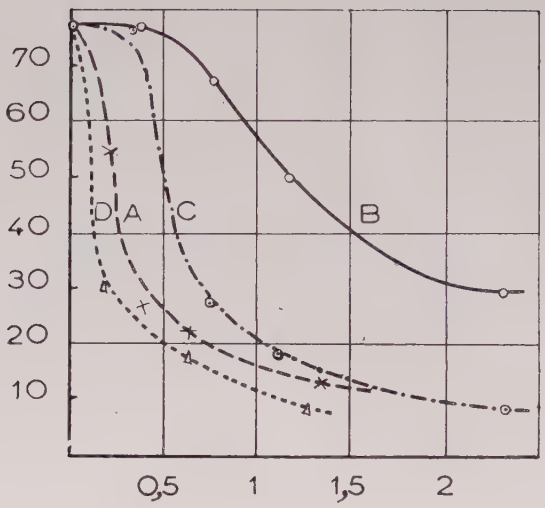



Fig. 6.

Courbes représentatives des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol après incubation en fonction de la concentration du milieu en inhibiteur (saponoside ou sel biliaire) (p. 1.000), en présence et en l'absence de sérum délipidé.

Saponoside-protéines (A);
Saponoside seul (B);
Sel biliaire-protéines (D);
Sel biliaire seul (C).

protéines-saponosides. Ces deux courbes, qui sont presque superposables, montrent que les saponosides, comme les sels biliaires, agissent par leur copule « stérolique » et apportent des arguments en faveur d'une action icélomorphe.

### IV. — Etude comparative du pouvoir inhibiteur exercé par divers saponosides

Les divers saponosides n'exercent pas toujours la même activité : qu'il nous suffise de rappeler les variations observées d'un saponoside à l'autre dans le pouvoir hémoly-

TABLEAU VII

| Saponoside (g par litre) | Aglycone du saponoside de « Sapindus » (g par litre) | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 77 |
| 0,21 | 0,10 | 54 |
| 0,43 | 0,21 | 27 |
| 0,65 | 0,32 | 22 |
| 1,31 | 0,65 | 13 |
| **Taurocholate de sodium (g par litre)** | **Portion stérolique du sel biliaire (g par litre)** | **Pourcentage d'estérification du cholestérol libre** |
| 0 | 0 | 77 |
| 0,21 | 0,15 | 30 |
| 0,43 | 0,31 | 27 |
| 0,65 | 0,47 | 18 |
| 1,31 | 0,95 | 9 |

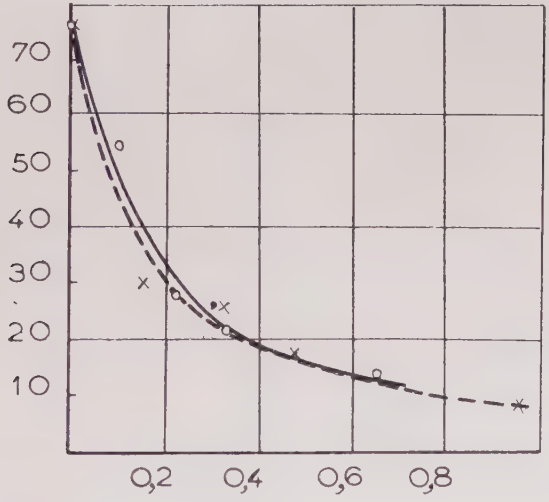



Fig. 7.

Courbes représentatives des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol après incubation en fonction de la teneur du sérum en saponoside (exprimé par la valeur de son aglycone) et en sel biliaire (exprimé par la valeur en noyau stérolique) (p. 1.000).

( · · · Sels biliaires.)

(— — — Saponosides.)

TABLEAU VIII

| Saponoside utilisé | Concentration en saponoside (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Pourcentage d'estérification du Cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|
| Témoin laissé à + 4° | 0 | 0,90 | 0,19 | 0 |
| Incubation 72 heures *Sapindus mukorosi* | 0 | 0,89 | 0,06 | 68 |
| | 0,32 | 0,85 | 0,06 | 68 |
| | 0,64 | 0,84 | 0,09 | 57 |
| | 1,14 | 0,85 | 0,10 | 47 |
| | 2,31 | 0,86 | 0,13 | 31 |
| | 3,25 | 0,91 | 0,15 | 21 |
| Gaïac | 0 | 0,85 | 0,06 | 68 |
| | 0,31 | 0,85 | 0,06 | 68 |
| | 0,62 | 0,93 | 0,07 | 63 |
| | 1,10 | 0,90 | 0,12 | 36 |
| | 2,25 | 0,86 | 0,15 | 21 |
| | 3,17 | 0,91 | 0,17 | 10 |
| Quillaya | 0 | 0,85 | 0,06 | 68 |
| | 0,32 | 0,85 | 0,09 | 57 |
| | 0,64 | 0,93 | 0,11 | 42 |
| | 1,14 | 0,85 | 0,12 | 36 |
| | 2,31 | 0,90 | 0,15 | 21 |
| | 3,25 | 0,93 | 0,17 | 10 |
| Marron d'Inde | 0 | 0,85 | 0,06 | 68 |
| | 0,32 | 0,86 | 0,10 | 47 |
| | 0,64 | 0,93 | 0,11 | 42 |
| | 1,14 | 0,85 | 0,15 | 21 |
| | 2,31 | 0,94 | 0,17 | 10 |
| | 3,25 | 0,91 | 0,18 | 5 |
| Fenugrec | 0 | 0,85 | 0,06 | 68 |
| | 0,32 | 0,91 | 0,08 | 58 |
| | 0,64 | 0,81 | 0,09 | 57 |
| | 1,14 | 0,91 | 0,14 | 26 |
| | 2,31 | 0,86 | 0,15 | 21 |
| | 3,25 | 0,86 | 0,19 | 0 |

tique [5] et dans l'extraction du cholestérol [133]. C'est la raison pour laquelle nous avons effectué une étude comparative de l'action de divers saponosides.

Nos expériences ont été conduites comme les précédentes. Nous avons tenu compte dans les doses de saponosides indiquées du degré d'hydratation de chaque échantillon que nous avions préalablement déterminé. Nos résultats se trouvent réunis dans le tableau VIII auquel correspondent les courbes de la figure 8.

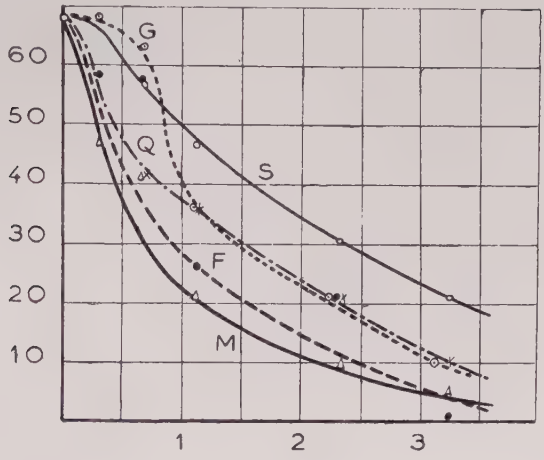



Fig. 8.

Courbes représentatives des variations du pourcentage d'estérification du cholestérol après incubation en fonction de la teneur du sérum en divers saponosides. — S *(Sapindus)*, G (Gaïac), Q (Quillaya), F (Fenugrec), M (Marron d'Inde) (p. 1.000).

Ces résultats montrent que l'action inhibitrice exercée par les divers saponosides est très comparable. C'est, en effet, à partir de 3 p. 1.000 environ que, dans tous les cas, on observe une inhibition appréciable; à cette concentration, le pourcentage de cholestérol estérifié au cours de l'incubation est inférieur à 21 p. 100.

Il est intéressant de noter encore que le saponoside du

*Sapindus mukorosi* qui présente le pouvoir inhibiteur le moins accusé est celui dont la copule glucidique est la plus abondante (49 p. 100) ; de plus, le saponoside du Marron d'Inde qui manifeste l'action la plus intense est justement celui dont la copule glucidique est la moins abondante (29 p. 100). Cette constatation apporte encore des arguments en faveur d'une combinaison saponoside-cholestérol dans laquelle intervient seulement l'aglycone de l'hétéroside.

## Conclusions du chapitre II

Les saponosides, et en particulier celui extrait du *Sapindus mukorosi* G., constituent des inhibiteurs de l'estérification du cholestérol sérique.

Les saponosides agissent exactement comme les sels biliaires et leur activité se trouve notablement accrue lorsqu'ils sont utilisés à l'état de complexes avec des protéines.

Les saponosides sont, à poids égal, moins actifs que les sels biliaires, mais si, au lieu d'utiliser les solutions habituelles, on met en œuvre des solutions moléculaires, on s'aperçoit que l'activité des deux inhibiteurs est absolument identique. Cette constatation apporte un argument en faveur de l'hypothèse que nous avons émise et selon laquelle l'action des sels biliaires et des saponosides s'expliquerait par une réaction icélomorphe entre ces substances et le cholestérol.

Les divers saponosides que nous avons étudiés (Sapindus, Gaïac, Quillaya, Marron d'Inde, Fenugrec) présentent une activité comparable ; celui dont l'aglycone est la plus abondante (Marron d'Inde) est le plus actif ; celui dont l'aglycone est la moins abondante (Sapindus) est le moins actif. Cette observation apporte encore des arguments en faveur de notre hypothèse.

# CHAPITRE III

## ASSOCIATIONS LIPIDO-PROTÉIDIQUES ET ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL

Les essais rapportés dans les deux chapitres précédents nous conduisent à admettre que le pouvoir inhibiteur des sels biliaires et des saponosides sur l'estérification du cholestérol sérique doit être lié, en partie tout au moins, à l'effet exercé par ces substances sur la stabilité des associations lipido-protéidiques. Pour savoir si cette conception correspond à la réalité, nous étudions parallèlement dans ce chapitre l'estérification du cholestérol et la stabilité des associations lipido-protéidiques au cours de l'incubation du sérum à 37° et pendant soixante-douze heures.

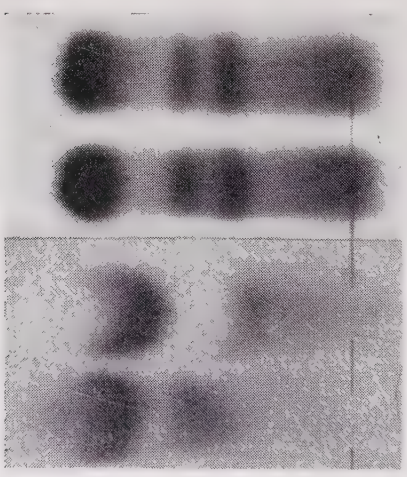
Pour apprécier la stabilité des cénapses lipido-protéidiques, on peut mettre en œuvre l'extraction des lipides par l'éther : on sait, en effet, que les savons [78], les saponosides [121], le di-hydroabiétate de sodium [75], etc., qui agissent sur les cénapses, permettent à l'éther d'extraire des lipides. Cette constatation ne saurait cependant être généralisée : qu'il nous suffise de rappeler le mode d'action des sels biliaires qui, ajoutés au sérum, « décollent » le cholestérol fixé sur les protéines, mais ne permettent pas son extraction par l'éther. Nous avons mis en œuvre pour notre étude l'électrophorèse sur papier, qui souvent permet

de saisir des modifications intéressantes des protéines et des lipides.

Dans une première expérience, nous avons étudié les diagrammes électrophorétiques (protéinogrammes et lipidogrammes) de sérums frais et des mêmes sérums laissés à l'étuve à 37° pendant soixante-douze heures. Nos essais ont été réalisés avec l'appareil de Machebœuf et Rebeyrotte (*) et avec la cuve de Machebœuf, Dubert et Rebeyrotte (*).

La révélation des protéines a été effectuée avec la technique dite de révélation lente au bleu de bromophénol (voir [72]) et celle des lipides avec la technique de Schwann [105] au noir Soudan. Nos premiers essais ont mis en œuvre le sérum de cheval. La figure 9 rend compte de nos résultats (**).

Les protéinogrammes ne subissent au cours du séjour



*Protéinogramme :*

avant incubation,

après incubation.

*Lipidogramme :*

avant incubation,

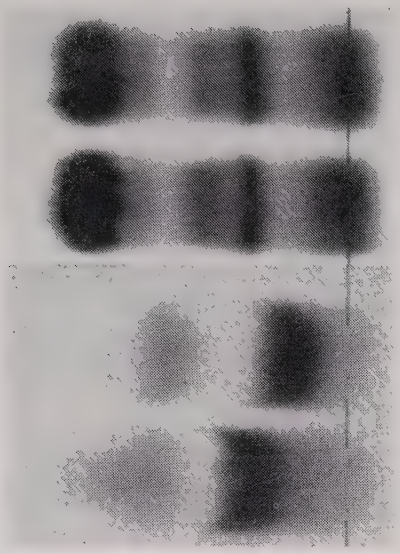
après incubation.

Fig. 9.

Sérum de cheval.

(*) Leres, constructeur.

(**) Nous adressons nos très vifs remerciements à M. Jean Grouillé, agent technique du Centre de Biologie préventive, qui a bien voulu réaliser pour nous les reproductions photographiques de nos diagrammes électrophorétiques.



*Protéinogramme :*

avant incubation,

après incubation.

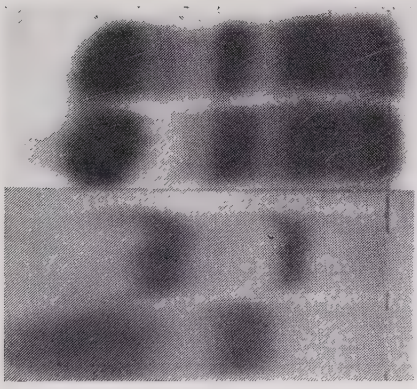
*Lipidogramme :*

avant incubation,

après incubation.

Fig. 10.

Sérum d'homme.



*Protéinogramme :*

avant incubation,

après incubation.

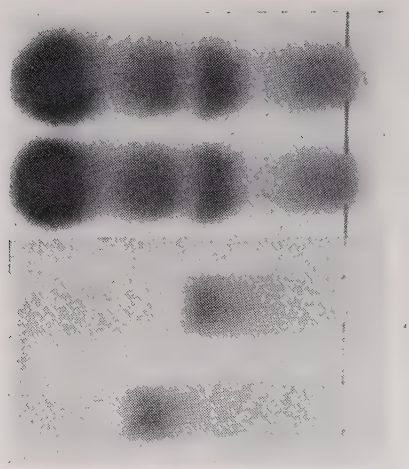
*Lipidogramme :*

avant incubation,

après incubation.

Fig. 11.

Sérum de chien.



*Protéinogramme :*

avant incubation,

après incubation.

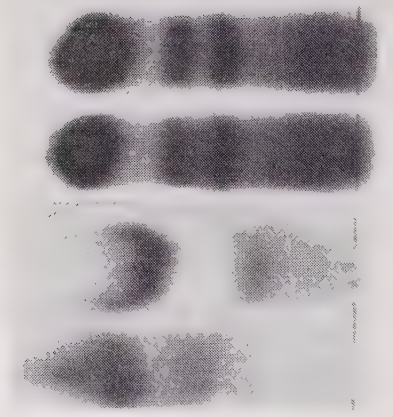
*Lipidogramme :*

avant incubation,

après incubation.

Fig. 12.

Sérum de lapin.



*Protéinogramme .*

avant incubation,

après incubation.

*Lipidogramme :*

avant incubation,

après incubation.

Fig. 13.

Sérum de mulet.

à 37° que des modifications minimes; les lipidogrammes, au contraire, présentent un aspect notablement différent. Les deux modifications essentielles sont les suivantes :

1° Les lipides primitivement fixés sur la zone $\beta$ passent sur la zone $\alpha$;

2° Les lipides fixés aux albumines migrent et s'étalent un peu plus loin.

Etant donné que les fractions du protéinogramme ne changent pas de place et étant donné également que tous les lipides contenant des acides gras se colorent au noir Soudan (Tayeau, Nivet et Reiss [141]), nous pouvons conclure qu'il s'est produit une dissociation lipido-protéidique au cours du séjour de soixante-douze heures à l'étuve à 37°.

Ce phénomène, à quelques variations quantitatives près, peut être observé avec tous les sérums que nous avons examinés (homme [fig. 10], chien [fig. 11], lapin [fig. 12], mulet [fig. 13]).

Cette modification du lipidogramme s'effectue graduellement et présente un incontestable parallélisme avec l'estérification du cholestérol (fig. 14).

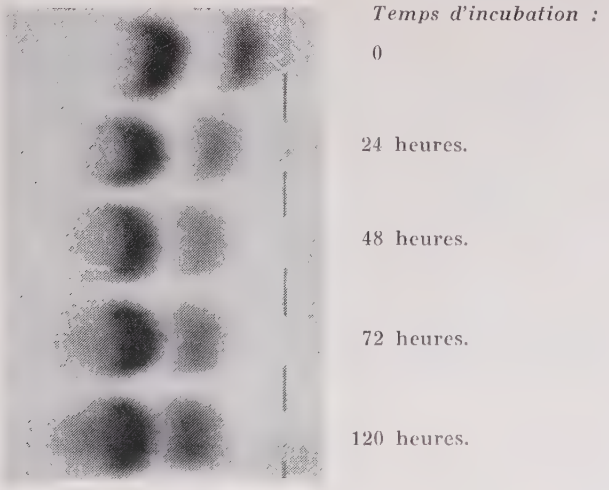



Fig. 14.

Evolution du lipidogramme au cours de l'incubation à 37° et en fonction du temps.

Nous nous sommes alors demandé en particulier si le « changement d'hôte » concernant les lipides des globulines présentait un rapport avec l'estérification du cholestérol, ou bien s'il constituait, au contraire, un phénomène tout à fait différent. Pour étudier ce problème, nous avons examiné l'effet exercé sur le comportement électrophorétique du sérum au cours du séjour à 37° par les divers inhibiteurs de l'estérification du cholestérol, sels biliaires, saponosides, monobromacétate, phloridzoside, et aussi par les divers facteurs inhibant ou ralentissant cette estérification, chauffage, dilution, salification, vieillissement.

## I. — Action des sels biliaires

Nous avons comparé les diagrammes électrophorétiques de sérums avant et après incubation à 37° en présence et en l'absence de sels biliaires (taurocholate de sodium). Les protéinogrammes ne subissant que de minimes modifications, nous ne donnerons que les lipidogrammes. La figure 15, correspondant à un sérum de cheval, montre que le taurocholate de sodium à la concentration de 2,5 p. 1.000 « bloque » la migration des lipides situés sur les globu-

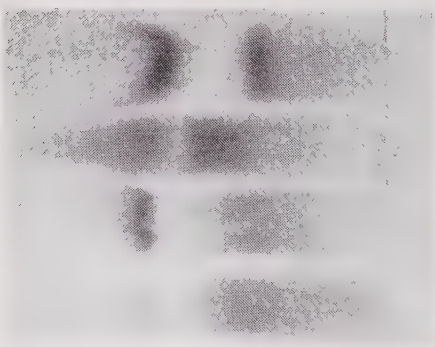
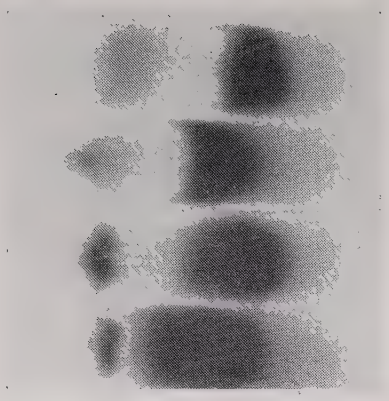



Fig. 15.

Action des sels biliaires.
Lipidogramme (sérum de cheval).



*En l'absence de sel biliaire* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

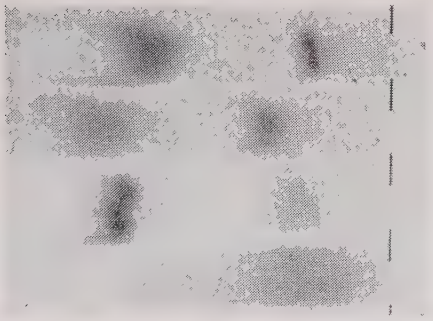
*En présence de sel biliaire* (2 p. 1.000) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 16.

Action des sels biliaires.
Lipidogramme (sérum d'homme).



*En l'absence de sel biliaire* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

*En présence de sel biliaire* (2 p. 1.000) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 17.

Action des sels biliaires.
Lipidogramme (sérum de chien).

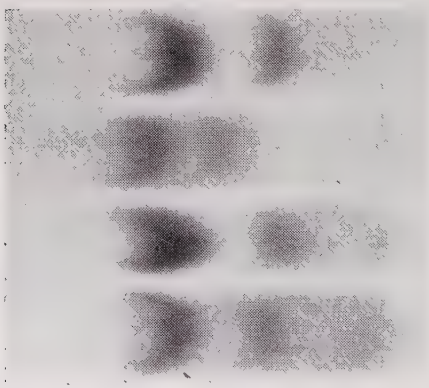
lines $\beta$. Avec le sérum d'homme (fig. 16) ou de chien (fig. 17), le phénomène apparaît moins nettement; on notera cependant, dans ces deux derniers cas, les perturbations apportées par les sels biliaires, qui signent de toute façon une modification de l'état des associations lipido-protéidiques.

Il existe donc un parallélisme entre la stabilité des associations lipido-protéidiques et l'estérification du cholestérol.

Notons que si l'on utilise des quantités plus élevées de sel biliaire, il se produit une plus grande perturbation du lipidogramme et, pour des quantités de l'ordre de 5 p. 1.000, les lipides finissent par rester sur la ligne de départ.

### II. — Action des saponosides

Nous avons réalisé des expériences avec le saponoside de *Sapindus mukorosi*. La figure 18 (sérum de cheval) montre nettement le « blocage » des lipides de la zone globuline $\beta$ sous l'influence du saponoside. Avec le sérum humain (fig. 19), le phénomène, tout en étant moins net, est quand même apparent : on remarque en effet — surtout en examinant la base de la tache — que la migration des lipides s'est trouvée ralentie.



*En l'absence de saponoside* (témoin) :
avant incubation,

après incubation.

*En présence de saponoside* (5 p. 1.000) :
avant incubation,

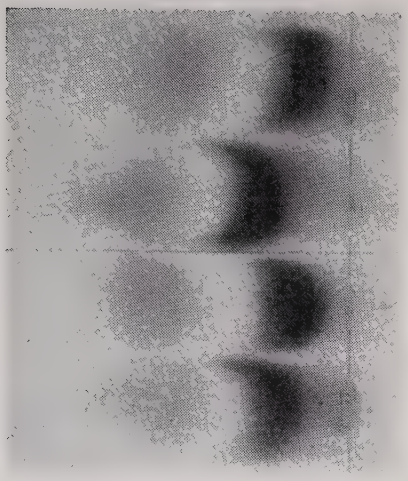
après incubation.

Fig. 18.

Action des saponosides.
Lipidogramme (sérum de cheval).

### III. — Action du monobromacétate de sodium

Les résultats obtenus avec cet inhibiteur sur le sérum d'homme (fig. 20) se montrent extrêmement nets : le



*En l'absence de saponoside* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

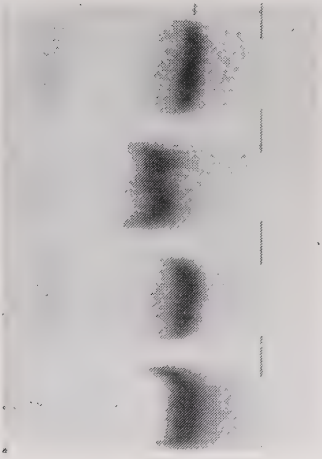
*En présence de saponoside* (4 p. 1.000) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 19.

Action des saponosides.
Lipidogramme (sérum d'homme).



*En l'absence de monobromacétate* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

*En présence de monobromacétate* (0,6 p. 1.000) :

avant incubation,

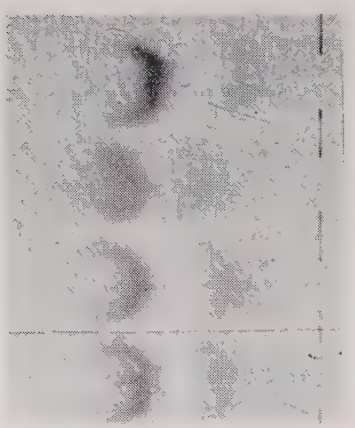
après incubation.

Fig. 20.

Action du monobromacétate de sodium.
Lipidogramme (sérum d'homme).

monobromacétate « stoppe » la migration des lipides situés sur la zone des $\beta$ globulines.

Avec le sérum de cheval (fig. 21), on observe un phénomène comparable.



*En l'absence de monobromacétate* (témoin) :

avant incubation,

après incubation

*En présence de monobromacétate* (0,30 p. 1.000) :

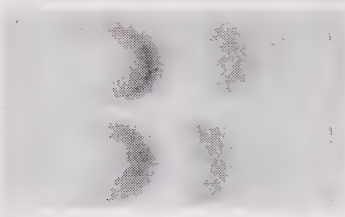
avant incubation,

après incubation.

Fig. 21.

Action du monobromacétate de sodium.
Lipidogramme (sérum de cheval).

Nous avons encore réalisé d'autres expériences avec des quantités variables de monobromacétate : au cours de nos essais, nous avons constaté que la mise en œuvre de quantités plus élevées de cet inhibiteur n'empêchait plus que partiellement la migration des lipides (fig. 22) ; il



*En présence de monobromacétate* (1,2 p. 1.000) :

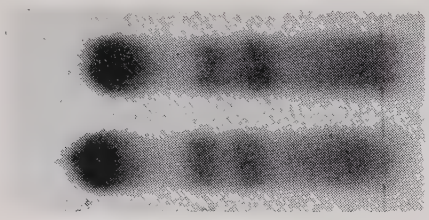
avant incubation,

après incubation.

Fig. 22.

Action du monobromacétate de sodium.
Lipidogramme (sérum de cheval).

convient alors de faire une importante remarque : le monobromacétate réagit peu à peu, surtout à chaud, sur les groupes amines [143] des protéines; celles-ci, présentant alors un *p*H isoélectrique plus bas, migrent plus loin (fig. 23), si bien que finalement la dissociation lipido-protéidique de la fraction $\beta$ se montre sinon nulle, tout au moins très réduite.



*En présence de monobromacétate* (1,2 p. 1.000) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 23.

Action du monobromacétate de sodium.
Protéinogramme (sérum de cheval).

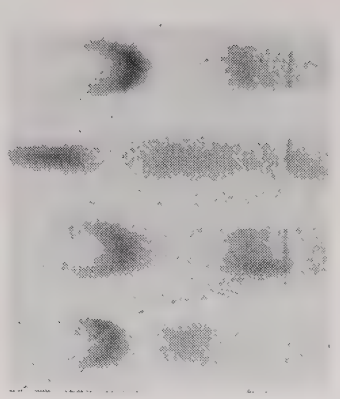
Il faut encore signaler que la fraction lipidique migrant probablement avec les albumines et située sur le lipidogramme-témoin entre les fractions albumines et globulines $\alpha_1$ conserve la même position après incubation en présence de monobromacétate.

De toute façon, il se produit un « blocage », sinon total, du moins partiel de la dissociation lipido-protéidique.

### IV. — Action du phloridzoside

Avec cet inhibiteur, les phénomènes constatés sont un peu moins nets; ce manque de netteté doit être rattaché, selon nous, aux difficultés de solubilisation de cet hétéroside dans le sérum. Dans le cas du cheval (fig. 24), on observe principalement une stabilisation de la fraction lipidique qui « suit » les albumines.

Dans le cas de l'homme (fig. 25), on note une migration un peu moins accentuée des lipides des $\beta$ globulines, surtout lorsque l'on considère la base de la tache.



*En l'absence de phloridzoside* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

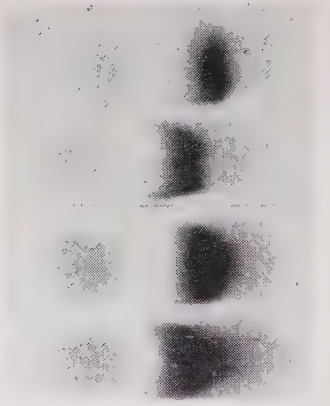
*En présence de phloridzoside* (1 p. 1.000) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 24.

Action du phloridzoside.
Lipidogramme (sérum de cheval).



*En l'absence de phloridzoside* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

*En présence de phloridzoside* (2 p. 1.000) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 25.

Action du phloridzoside.
Lipidogramme (sérum d'homme).

## V. — Action du chauffage

Sperry [110] a signalé que si l'on chauffe un sérum vers 58° pendant une heure, on détruit la cholestérol-estérase. La fig. 26 montre les perturbations du protéino-

gramme d'un sérum de cheval chauffé une heure à 58°; ces perturbations ont d'ailleurs été décrites par Ardry [4] et par Slizewicz [107].

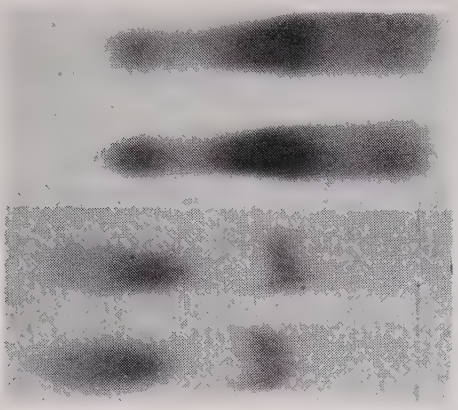



Fig. 26.

Influence du chauffage à 58° (une heure); sérum de cheval.

L'examen du lipidogramme correspondant à ce sérum chauffé montre que l'incubation pendant soixante-douze heures à 37° n'amène plus aucune modification. Ici encore, il y a parallélisme entre les modifications du diagramme électrophorétique après incubation à 37° et l'estérification du cholestérol.

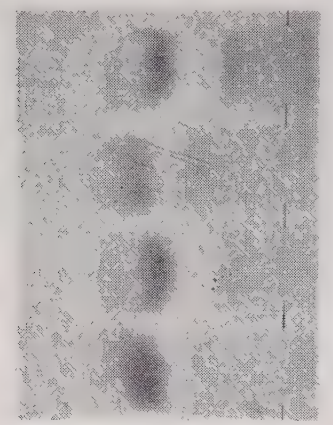
## VI. — Dilution du sérum

Sperry [110] a noté que si l'on dilue le sérum (plus de cinq fois) « la cholestérolestérase » perd une partie de son activité.

Nous avons donc étudié parallèlement les modifications produites par l'incubation à 37° sur un sérum normal et sur un sérum dilué.

La fig. 27 indique les résultats que nous avons obtenus. L'aspect beaucoup moins net de ces lipidogrammes doit

être rattaché aux difficultés présentées par la mise en œuvre de sérum dilué. On notera que la tache correspondant aux lipides des $\beta$ globulines a effectué une migration



*Sérum non dilué* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

*Sérum dilué* (cinq fois) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 27.

Influence de la dilution.
Lipidogramme (sérum de cheval).
N. B. — Les protéinogrammes correspondants sont absolument identiques.

un peu moins accentuée dans le cas du sérum dilué. Cette migration limitée évolue parallèlement à l'estérification du cholestérol qui se trouve, elle aussi, ralentie.

Il est intéressant de rapprocher cette constatation des observations effectuées jadis par Tayeau : cet auteur a constaté que l'éther, en présence de savons [119] ou de saponosides [125], extrait beaucoup moins de lipides lorsque le sérum a été préalablement dilué.

## VII. — Salification

Dans nos tout premiers essais, nous avions tenté d'isoler la cholestérolestérase sérique; pour cela, nous avions fractionné du sérum à l'aide de sulfate d'ammonium à différentes concentrations et nous soumettions à la dialyse sous

pression (afin d'éviter la dilution) les fractions obtenues; nous recherchions alors sur chacune de ces fractions les possibilités d'estérification du cholestérol au cours de l'incubation, afin de localiser celle dans laquelle se trouvait l'enzyme. Quel ne fut pas notre étonnement de constater que le pouvoir estérifiant avait disparu presque partout ! Nous avons alors pensé que la dialyse avait peut-être éliminé un coenzyme ou un activateur nécessaire à la cholestérolestérase. Nous avions donc réalisé de nouveaux essais qui consistaient à ajouter aux fractions dialysées le résidu d'évaporation du liquide de dialyse du même sérum. Cette opération, dont nous ne donnerons pas les résultats, constitua un échec !

Nous savons combien les protéines sont fragiles : le moindre traitement est susceptible de changer leur comportement. Tout récemment encore, Rebeyrotte [98] a signalé les modifications électrophorétiques de fractions protéidiques salifiées, puis dialysées.

Nous avons pu constater par la suite que le traitement du sérum au sulfate d'ammonium suivi de la dialyse diminue considérablement le pouvoir estérifiant du sérum. Cette diminution est due, ici encore, à une perturbation des associations lipido-protéidiques.

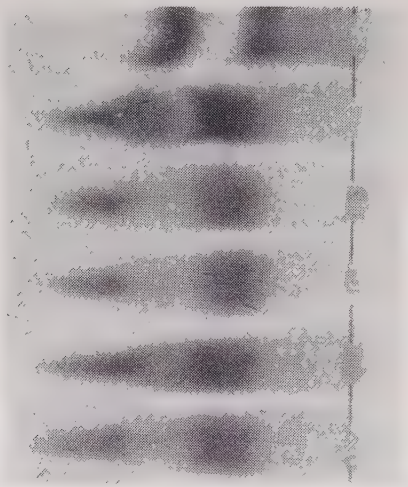
Ces résultats montrent combien il faut être prudent lorsque l'on étudie le fractionnement des protéines par relargage; beaucoup de fractions reconnues comme naturelles ne sont sans doute que des artefacts.

### VIII. — Sérum vieilli

Mlle Le Breton et Pantaléon [59] ont signalé que, dans un sérum vieilli, l'incubation ne provoque plus l'estérification du cholestérol.

Les essais que nous avons réalisés sur de vieux sérums (conservés aseptiquement, et sans aucun traitement préalable, à + 4° pendant dix ans) montrent qu'après incuba-

tion pendant soixante-douze heures à 37°, le lipidogramme ne se modifie pratiquement plus (fig. 28). Cette constatation doit être rapprochée de travaux antérieurs sur les modifications du système lipido-protéidique au cours du vieillissement : l'éther, qui en présence d'alcool [24], de savons [120] ou de saponosides [127] extrait d'un sérum frais des



*Sérum frais* (témoin) :

avant incubation,

après incubation.

*Vieux sérum* (dix ans) :

avant incubation,

après incubation.

*Vieux sérum* (antidiphtérique, dix ans) :

avant incubation,

après incubation.

Fig. 28.

Influence du vieillissement.
Lipidogramme (sérum de cheval).

lipides variés, n'en extrait presque plus d'un sérum vieilli. Ces modifications ont été rattachées par tous les auteurs aux transformations des associations lipido-protéidiques [131].

Il est intéressant de signaler que, dans les lipidogrammes des sérums vieillis, la majorité des lipides se trouve sur la zone $\alpha_2$ et non sur la zone $\beta$, comme c'est le cas pour un sérum frais. Ce résultat est à rapprocher des constatations de Pantaléon [90] : cet auteur a signalé que, pendant la conservation aseptique du sérum, la lécithase intervient peu à peu et, après un certain temps, un à deux mois, le

cholestérol s'est estérifié au maximum comme s'il avait été placé à l'étuve à 37° pendant trois jours. On conçoit que, dans ces conditions, l'estérification du cholestérol ait atteint son terme et en conséquence que les lipidogrammes n'offrent plus, au cours du séjour à 37°, les modifications habituellement observées avec un sérum frais.

Notons encore que, par rapport aux sérums frais, les lipidogrammes des sérums vieillis se montrent atténués; ceci peut s'expliquer par la formation avec le temps du précipité toujours présent dans les vieux sérums et constitué en grande partie par des acides gras à l'état de savons de calcium (Polonovski, Fâure et Machebœuf [93]).

Tous ces faits mettent en évidence le parallélisme étroit qui existe entre les modifications du lipidogramme et l'estérification du cholestérol au cours de l'incubation.

Il semble donc que tout facteur susceptible de modifier l'état de dispersion du cholestérol sérique peut constituer un inhibiteur de l'estérification du cholestérol. Il convient cependant de ne pas être absolu dans ce domaine, car il est possible que certaines substances perturbent les lipidogrammes sans modifier obligatoirement l'état de dispersion du cholestérol (cas particulier de la rupture des liaisons protéines lécithines); nous réalisons actuellement des recherches sur ce point.

Nos conclusions ne sont nullement incompatibles avec celles de M^lle^ Le Breton et Pantaléon, selon lesquelles certains inhibiteurs agiraient sur la lécithase.

Il est, en effet, plausible de penser que les inhibiteurs n'exercent pas tous une action identique et puissent être classés en deux groupes.

1° Ceux, du type sels biliaires ou saponosides, qui interviendraient sur les associations lipido-protéidiques. On peut ainsi concevoir que les sels biliaires soient des activateurs de la cholestérolestérase pancréatique : dans la lumière intestinale, le cholestérol ne se trouve pas à l'état d'associations cholestérol-protéines; par ailleurs, l'existence de la

cholestérolestérase pancréatique n'est nullement contestée. On conçoit aussi que les sels biliaires inhibent l'estérification du cholestérol dans le sang par leur action, non sur un enzyme, mais sur les associations lipides-protéines en modifiant l'état de dispersion du cholestérol et empêchant ainsi son estérification.

2° Ceux du type monobromacétate pour lesquels aucune action particulière sur les associations lipido-protéidiques n'a été mise en évidence [143] et qui exerceraient leur effet sur la lécithase (conception de M^lle^ Le Breton et Pantaléon). Il n'est pas impossible que, dans certains cas, le déplacement électrophorétique des lipides au cours de l'incubation soit conditionné par l'hydrolyse préalable des lécithines.

## Conclusions du chapitre III

Nous avons étudié dans ce chapitre des modifications subies par les protéinogrammes et les lipidogrammes au cours de l'incubation à 37°. Nous avons insisté particulièrement sur les modifications du lipidogramme qui évoluent parallèlement à l'estérification du cholestérol.

Nous avons montré que les divers inhibiteurs de l'estérification du cholestérol (sels biliaires, saponosides, monobromacétate, phloridzoside) diminuent ou empêchent les modifications du lipidogramme au cours de l'incubation.

Nous avons mis en évidence l'effet parallèle exercé par divers facteurs (chaleur, dilution, salification, vieillissement) sur l'estérification du cholestérol et les modifications du lipidogramme.

Nous avons émis enfin une hypothèse sur le mode d'action des divers inhibiteurs de l'estérification du cholestérol sérique.

Nos résultats mettent en évidence le parallélisme qui existe entre l'estérification du cholestérol et la stabilité des associations lipido-protéidiques.

Ces résultats sur les rapports qui existent entre la stabilité des associations lipido-protéidiques et l'estérification du cholestérol nous conduisent à émettre, avec Tayeau, une hypothèse d'ordre physiologique. Il est très probable que l'estérification du cholestérol doive s'accompagner, *in vivo* également, de cette migration des lipides de la zone $\beta$ sur la zone $\alpha$. Le fait qu'un sérum frais laisse toujours apparaître ses lipides sur la zone $\beta$ nous incite à penser que les lipoprotéines se trouvent utilisées au fur et à mesure de leur formation; autrement dit, le transport des acides gras dans la circulation (du foie aux cellules et aux réserves) s'accompagnerait de cette migration. Cela nous aide à concevoir l'hyperlipémie et l'hypercholestérolémie qui caractérisent le sérum des malades atteints d'ictère oblitérant : chez ces malades, la présence dans le sang de sels biliaires peut empêcher cette migration des lipides; un tel sérum, incubé soixante-douze heures à 37°, montre par le lipidogramme que presque tous les lipides se trouvent toujours sur les $\beta$ globulines. On peut donc admettre que, sous cette forme ($\beta$), les lipides ne peuvent pas être utilisés et, en conséquence, s'accumulent sur cette fraction (voir page 74).

Nous ne méconnaissons pas, certes, le caractère spéculatif de cette conception; elle constituera néanmoins le point de départ de nos futures recherches.

# CHAPITRE IV

## ASSOCIATIONS LIPIDO-PROTÉIDIQUES ET POUVOIR CHOLESTÉROLYTIQUE DU SÉRUM SANGUIN

Lœper, Lemaire et Lesure [63] ont décrit, il y a près de trente ans, le *pouvoir cholestérolytique du sérum sanguin*. Ce pouvoir se trouve lié à la propriété que possèdent certains sérums de « dissoudre », à la température de 38°, du cholestérol en poudre (pouvoir positif) ; il peut arriver cependant que, non seulement le sérum ne dissolve pas le cholestérol dont on l'additionne, mais encore qu'il « rejette » partiellement son propre cholestérol (pouvoir négatif).

La technique de mesure consiste à placer en ampoules du sérum recueilli aseptiquement, dont on a préalablement déterminé la teneur en cholestérol, à l'additionner de cholestérol pulvérisé (20 mg par $cm^3$) et à placer l'ensemble à 38° pendant quarante-huit heures. Le sérum est alors soigneusement filtré et fait l'objet d'un nouveau dosage de cholestérol. Si le chiffre obtenu dans ce dernier dosage est supérieur au chiffre initial, le sérum présente un pouvoir positif ; si, au contraire, il est inférieur, le sérum présente un pouvoir négatif.

Cette mesure du pouvoir cholestérolytique a connu une

vogue passagère et d'intéressantes études, concernant notamment ses variations physiologiques, ont été réalisées par Eck et Desbordes [33]. Récemment, Faber [35] a émis des critiques sur la technique utilisée et sur le manque de fidélité des résultats obtenus.

Lemaire et ses collaborateurs [62] ont effectué des recherches systématiques sur le mécanisme de ce pouvoir cholestérolytique. Ces auteurs ont utilisé des lapins hypercholestérolémiques et, dans le sérum de ces animaux, ils ont dosé le cholestérol total, le cholestérol lié à la fraction globulines et le cholestérol fixé à la fraction albumines avant et après incubation du sérum à 38°; ils ont étudié parallèlement le pouvoir cholestérolytique. Ils constatent alors que, dans le cas d'un pouvoir positif, on observe un passage du cholestérol de la fraction globulines sur la fraction albumines. Cette constatation se montre tout à fait en accord avec nos observations : lorsque Lemaire et coll. parlent de globulines et d'albumines, ils font allusion à ces deux fractions préparées suivant la technique de relargage au sulfate d'ammonium (technique d'Hofmeister [48]); or, il est bien établi aujourd'hui que les albumines ainsi préparées se conduisent en partie à l'électrophorèse comme des $\alpha$ globulines. Le passage du cholestérol des globulines aux albumines correspond donc très probablement aux observations décrites dans le précédent chapitre, c'est-à-dire au passage des lipides des globulines $\beta$ sur les globulines $\alpha$. On peut donc admettre que les globulines $\beta$ ayant ainsi perdu leurs lipides se trouvent aptes à capter du cholestérol; c'est à cette conclusion que se rallient Lemaire [62] et aussi Machebœuf [70].

Pour étayer cette conception, nous avons désiré savoir si une fraction ou un sérum ayant ainsi « perdu » ses lipides se montrait particulièrement apte à capter du cholestérol. Pour résoudre ce problème, nous avons réalisé l'expérience suivante : nous avons mis en présence de sérum de cheval

(2 cm³), du cholestérol (*) (4 mg) (A) ; parallèlement, nous avons réalisé la même expérience en mettant en jeu le même sérum privé de son cholestérol (technique de Mc Farlane [67]) (B), puis le même sérum privé de ses lipides (technique à l'éther légèrement alcoolisé, à — 70° [C] ou technique de Hardy et Gardiner [D]). Après deux heures et après soixante-douze heures de séjour à l'étuve à 38°, nous avons calculé la quantité de cholestérol resté à l'état libre ; pour cela, nous avons simplement traité nos échantillons par 15 cm³ d'éther et dosé le cholestérol dissous par ce solvant.

Les résultats que nous avons obtenus se trouvent dans le tableau IX.

TABLEAU IX

| Echantillons | Cholestérol extrait par l'éther après séjour a 38° | |
|---|---|---|
| | de 2 heures (en mg) | de 72 heures (en mg) |
| A (témoin) ..... | 4,26 | 3,48 |
| B (sérum privé de cholestérol) ..... | 4,05 | 3,25 |
| C (sérum délipidé) ..... | 4,00 | 3,25 |
| D (sérum délipidé) ..... | 4,05 | 3,25 |

Il résulte de cette expérience que le sérum mis en jeu a retenu du cholestérol puisque l'éther en recueille, en fin d'opération, un peu moins qu'il n'en a été ajouté. Ce phénomène est plus accentué lorsque le sérum a été préalablement « décholestérolé » ou « délipidé ». Cette constatation est conforme aux données de Tayeau et Rolland [144] ayant montré qu'un sérum privé de ses lipides exerce un

(*) Il s'agit du résidu d'une solution alcoolique de cholestérol.

pouvoir « fixateur » vis-à-vis de diverses substances beaucoup plus élevé que le même sérum non délipidé.

Nous avons effectué un grand nombre d'expériences comparables à celle précédemment décrite; souvent, nous avons obtenu des résultats identiques à ceux rapportés plus haut, mais il nous est arrivé également de trouver des résultats inverses ! Cette constatation, malgré la rigueur de notre technique, semble paradoxale; on conçoit mal, par exemple, que l'éther puisse extraire d'un sérum préalablement délipidé et ne contenant plus de cholestérol (phénomène vérifié) une quantité de cholestérol supérieure à celle ajoutée ! D'où vient donc le cholestérol en excès ?

Au cours d'une intéressante série de recherches, Lemaire, Lœper et M^lle^ Lœper [62] ont répondu par avance à cette curieuse constatation. Ces auteurs ont, en effet, prouvé que l'adjonction de cholestérol n'est pas seule à entraîner des modifications du taux d'extraction de cet alcool. Il suffit de laisser du sérum tel quel à 38° et pendant quarante-huit heures pour que le taux du cholestérol ne soit plus le même après qu'avant incubation; tantôt il est abaissé, tantôt il est augmenté. Comment peut-on expliquer ces faits ? Les auteurs pensent qu'au cours du séjour à l'étuve, il peut se produire une désintégration de certaines cénapses très stables et ayant résisté à l'extraction au cours du premier dosage (cas de l'augmentation du taux en cholestérol) ; dans d'autres cas, on peut avoir le phénomène inverse et certaines cénapses peuvent, au cours de l'incubation, devenir plus stables (cas de la diminution du taux en cholestérol).

Ces hypothèses nous semblent très plausibles et méritent d'être rapprochées des résultats obtenus par Breton [12] dans le laboratoire où nous avons travaillé. Cet auteur a montré que le dosage des lipides (effectué par la technique de Kumagawa-Suto [55]) et du cholestérol en particulier donnent des valeurs beaucoup plus élevées lorsque l'on opère sur le sérum préalablement protéolysé (trypsine) que sur le sérum natif; ces faits ont été confirmés par la suite

par Blass, Springell et Machebœuf [10]. Il existe donc des lipides qui résistent à l'extraction même par l'alcool et l'éther à chaud et que la protéolyse ou le séjour à l'étuve peuvent démasquer.

Ces faits commandent la prudence en matière de tests intéressant le cholestérol; ils expliquent les résultats différents obtenus avec les diverses méthodes de dosage du cholestérol et indiquent que les valeurs du pouvoir cholestérolytique doivent être interprétées avec la plus grande circonspection.

Quoi qu'il en soit, le pouvoir cholestérolytique doit être rattaché à la stabilité des associations lipido-protéidiques.

### Conclusions du chapitre IV

Nous avons étudié le mécanisme du pouvoir cholestérolytique de Lœper, Lemaire et Lesure. Après avoir montré le pouvoir fixateur exercé par les protéines vis-à-vis du cholestérol, nous attirons l'attention sur la difficile interprétation de ce test biologique.

# CHAPITRE V

## STABILITÉ DES ASSOCIATIONS LIPIDO-PROTÉIDIQUES ET ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL DANS LE SÉRUM DES MALADES CHOLALÉMIQUES.

Dans le second chapitre de notre étude expérimentale, nous avons étudié le pouvoir inhibiteur exercé par les sels biliaires sur l'estérification du cholestérol au cours de l'incubation du sérum. Il nous a semblé intéressant de transposer nos résultats dans le domaine pathologique et d'étudier le comportement d'un sérum contenant naturellement des sels biliaires, c'est-à-dire un sérum cholalémique.

Les sérums humains les plus riches en sels biliaires sont ceux qui proviennent de malades atteints d'ictères oblitérants. Chez ces malades, le taux en esters du cholestérol est généralement très bas [18] et le rapport classique $\frac{\text{cholestérol estérifié}}{\text{cholestérol total}}$ est particulièrement effondré. De plus, la capacité d'estérification du cholestérol se trouve souvent très réduite; plusieurs auteurs (Alkalay et Favarger [3], Favarger [36], Bénard, Gajdos, Desgrez, Lambotte et Polonovski [9], Turner et Pratt [148]) ont en effet montré que, si l'on place un tel sérum à l'étuve à 37° et pendant soixante-douze heures, le taux en cholestérol libre

se modifie très peu ou même pas du tout. Cette constatation a été attribuée à la présence des sels biliaires (Klein [52], Favarger [36]). Nous avons mentionné plus haut (voir page 36) les discussions qui ont eu lieu à ce sujet, et nous avons apporté des arguments en faveur du rôle joué par la cholalémie.

Ce ralentissement dans l'estérification du cholestérol au cours de l'incubation s'accompagne d'une instabilité des

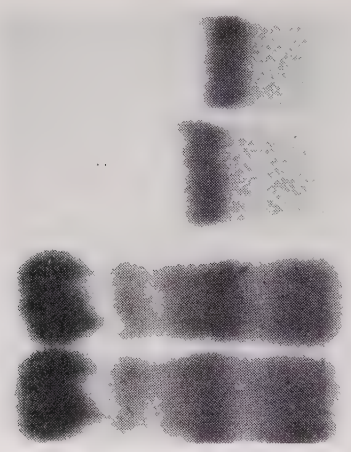



Fig. 29.

Sérum de malade atteint d'ictère obstructif (cancer de la tête du pancréas).

cénapses lipido-protéidiques : Tayeau [123] a démontré que l'éther est capable d'extraire du sérum une grande partie et parfois même la totalité des lipides sériques; or, rien de semblable ne se produit avec un sérum normal [49].

Ces diverses observations nous ont incité à étudier le comportement électrophorétique du sérum d'un malade atteint d'ictère oblitérant (cancer de la tête du pancréas) au cours de l'incubation du sérum à 37°. L'expérience que nous avons réalisée (fig. 29) montre que, pendant l'incubation, les lipides ont migré sensiblement; notons néanmoins

que le phénomène est beaucoup moins accentué qu'avec un sérum normal. Les données que nous avons établies précédemment (parallélisme entre la dissociation lipido-protéidique et l'estérification du cholestérol) allaient-elles se trouver partiellement en défaut au cours de ces essais ? Il n'en est rien, car le protéinogramme du même sérum, dont l'aspect typique (cas des ictères) est bien connu [82], présente des modifications parallèles à celles du lipidogramme. Il n'y a donc pas eu dissociation lipido-protéidique au cours de l'incubation et, *in vivo* comme *in vitro,* les sels biliaires peuvent inhiber les deux phénomènes.

Cette observation montre que le rapport $\frac{\text{cholestérol estérifié}}{\text{cholestérol total}}$ si utilisé en clinique et considéré habituellement comme un test d'une altération cellulaire hépatique (Villaret, Fauvert) doit être interprété avec prudence; on peut fort bien avoir cholalémie et cependant intégrité du parenchyme hépatique : dans ce cas, le rapport E/T diminue nettement. Trois causes peuvent donc perturber ce rapport : la cholalémie, des troubles de la biogenèse, probablement hépatique, des associations lipido-protéidiques et des perturbations dans la synthèse de la lécithase, dont l'action indirecte sur l'estérification du cholestérol reste essentielle (Pantaléon [90]).

Tant de causes variées ne simplifient pas le problème; aussi la prudence sera de règle dans l'interprétation du rapport E/T.

## Conclusions du chapitre V

Nous avons montré, dans ce chapitre, les rapports qui existent entre la stabilité des associations lipido-protéidiques du sérum et l'estérification du cholestérol sérique chez les cholalémiques.

# CHAPITRE VI

## LA STABILITÉ DES ASSOCIATIONS LIPIDO-PROTÉIDIQUES ET L'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL CHEZ LES NÉPHROSIQUES

La néphrose lipoïdique, dont le syndrome humoral est constitué par l'hypoprotéinémie, l'inversion du rapport albumines/globulines, l'hyperlipémie, l'hypercholestérolémie et la présence de corps biréfringents dans l'urine, présente une étiologie encore inconnue. De multiples causes ont été invoquées pour expliquer ce syndrome; lésion rénale (Chauffard, Widal, Bing, Heckscher et Jessen), hypothyroïdie (Moran, Jimenez Diaz), etc.; on trouvera d'intéressantes données sur l'étiologie de la néphrose dans une récente revue [61].

Quoi qu'il en soit, l'hyperlipémie accompagne toujours l'hypoprotéinémie et, si les auteurs sont d'accord pour admettre que ces deux symptômes sont liés l'un à l'autre, ils ne sont plus d'accord cependant lorsqu'il s'agit de savoir lequel est primitif. Si certains voient dans l'hyperlipémie la cause première de l'hypoprotéinémie (Weltmann et Biach), la plupart admettent l'inverse (Epstein, Fishberg, Van Creveld). D'ailleurs, l'hypoprotéinémie expérimentale crée l'hyperlipémie; l'inverse n'est généralement pas vrai.

Les sérums de néphrosiques présentent souvent un

aspect lactescent. Cet aspect doit être rattaché à la faible teneur relative de ces sérums en lécithines. Nous avons rappelé, en effet, au début de notre travail que les lécithines forment, dans les associations lipido-protéidiques, le trait d'union entre les protéines et le cholestérol. La possibilité de fixation des lipides et du cholestérol sur les phospholipides est limitée et, lorsque cette limite est dépassée, le sérum devient lactescent. Cette lactescence n'est donc pas conditionnée par la lipémie, mais par le rapport $\frac{\text{lécithino - protéines}}{\text{lipides totaux}}$, qui ne doit pas s'abaisser au delà d'une certaine valeur; cette conception est en accord avec les importants travaux de Boyd [11], Nagler [84], Mc Farlane et Knight [67], Arhens et Kunkel [2]. Cette lactescence témoigne d'un trouble de l'état des lipides; d'ailleurs, si l'on agite un sérum de néphrosique avec de l'éther, ce solvant extrait une partie des lipides sériques (Van Creveld et Arons [149]).

Nous avons désiré savoir si cette perturbation des associations lipido-protéidiques se reflétait sur l'estérification du cholestérol.

Nous avons pu obtenir cinq sérums de néphrosiques particulièrement typiques (*). Voici les résultats que nous avons obtenus (tableau X).

Ces essais montrent que les sérums néphrosiques présentent un ralentissement dans l'estérification du cholestérol, mais ce ralentissement n'est pas suffisamment net pour que le phénomène se reflète sur les lipidogrammes.

Nous apportons un autre argument en faveur des conceptions précédemment décrites, grâce à l'étude d'un sérum de malade atteint d'une hyperlipémie et hypercholestérolémie essentielles. Ce malade, qui présente une lipémie de 15,1 g et une cholestérolémie de 3,35 g n'est pas hypoprotéiné-

(*) Notons que chez ces néphrosiques la protéinémie oscille entre 45 et 50 g par litre.

TABLEAU X

| Sérum n° 1 | N° 1 (en g) | N° 2 (en g) | N° 3 (en g) | N° 4 (en g) | N° 5 (en g) |
|---|---|---|---|---|---|
| Lipides totaux | 10,5 | 12 | 34 | 20,5 | 19,0 |
| Cholestérol total | 2,45 | 2 | 7,16 | 5,3 | 4,2 |
| Cholestérol libre | 1,20 | 1,1 | 2,60 | 72 | 1,46 |
| Cholestérol libre après incubation | 0,93 | 1,0 | 2,14 | 1,58 | 1,35 |
| Rapport E/T | 0,51 | 0,45 | 0,63 | 0,67 | 0,65 |
| Pourcentage de cholestérol estérifié au cours de l'incubation | 22 | 1 | 13 | 8 | 7 |

mique. La protéinémie est même élevée : 83 g. Dans ces conditions, les abondants lipides que contient son sang ne se trouvent pas dans un état anormal; le sérum n'était d'ailleurs pas lactescent : aussi, ce malade estérifie-t-il normalement son cholestérol (tableau XI).

TABLEAU XI

| | |
|---|---|
| Protéines | 83,0 g |
| Lipides | 15,1 g |
| Cholestérol total | 3,35 g |
| Cholestérol libre | 0,73 g |
| Cholestérol libre après incubation | 0,40 g |
| Rapport albumines/globulines | 1,30 g |

## Conclusions du chapitre VI

Le sérum des malades atteints de néphrose lipoïdique présente un ralentissement de l'estérification du cholestérol en rapport avec une instabilité relative des associations lipido-protéidiques.

# CHAPITRE VII

## L'HYPERLIPÉMIE ET L'HYPERCHOLESTÉROLÉMIE DES HYPOPROTÉINÉMIES

Pour expliquer l'hyperlipémie et l'hypercholestérolémie qui, dans la néphrose lipoïdique, apparaissent en même temps que l'hypoprotéinémie, plusieurs chercheurs ont essayé de reproduire chez l'animal ce triple symptôme. Les études qu'ils ont ainsi réalisées et les observations qu'ils ont faites permettent de comprendre la symptomatologie de la néphrose lipoïdique et de discuter le mécanisme qui relie l'hypercholestérolémie et l'hypoprotéinémie.

Plusieurs chercheurs ont provoqué chez l'animal l'hypoprotéinémie, soit à l'aide de régimes déficients, soit plus simplement en provoquant des saignées abondantes et répétées [51, 80, 81, 73, 142]. Dans ces conditions, on voit apparaître successivement l'hypoprotéinémie, l'hypercholestérolémie, puis l'hyperlipémie. Quelques auteurs ont réalisé la *plasmaphérèse,* c'est-à-dire qu'après avoir effectué la saignée, ils ont réinjecté les globules à l'animal, afin de ne provoquer qu'une « anémie plasmatique » [51, 73, 142] ; cette opération ne change pratiquement rien au résultat et permet de penser que l'hématopoïèse et la protéinogenèse empruntent deux mécanismes différents (Tayeau et Pautrizel [142]). M^lle^ Fishberg [39] considère l'hypercholestérolémie et

l'hyperlipémie comme une réaction compensatrice, un processus de défense vis-à-vis des troubles dus à l'hypoprotéinémie; l'un de ces troubles se trouve constitué par la baisse de pression de Starling du plasma sanguin. Mlle Fishberg, puis Machebœuf et Sandor [76] ont apporté des arguments à cette conception en montrant que les lipides compensaient partiellement la chute de pression de Starling, due à la diminution des protéines sériques; le cholestérol aussi jouerait d'ailleurs son rôle [97]. Ces auteurs n'indiquent pas cependant le mécanisme suivant lequel apparaît l'hyperlipémie consécutive à l'hypoprotéinémie.

Les constatations concernant ces hypoprotéinémies expérimentales se montrent assez comparables à celles observées dans la néphrose lipoïdique [22]. Pour cette raison, nous avons réalisé des expériences chez le lapin. Nous avons soumis un certain nombre d'animaux à de fréquentes saignées et nous avons suivi la protéinémie, la lipémie, la cholestérolémie (cholestérol total et cholestérol libre), le pouvoir estérifiant du sérum et l'évolution des diagrammes électrophorétiques. Les tableaux XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII et XVIII résument un certain nombre de nos résultats.

Afin de ne pas surcharger notre texte, nous n'avons représenté que les courbes correspondant aux lapins n° 18 et n° 33 (fig. 30 et 31).

L'examen des tableaux et des courbes permet certaines conclusions :

*a)* Le taux de la lipémie suit fidèlement celui de la cholestérolémie;

*b)* Plus la cholestérolémie est élevée, plus le rapport E/T et la capacité d'estérification du cholestérol atteignent des chiffres bas; cette constatation est particulièrement nette en ce qui concerne les sérums présentant les lipémies les plus élevées (n° 18, n° 30, n° 45 et n° 33).

Lorsque le sérum contient un excès de cholestérol, ce dernier ne peut plus être estérifié. Il est intéressant de

## TABLEAU XII

LAPIN N° 18. — Saignées effectuées tous les jours (20 cm³ environ).

| SAIGNÉES | PROTÉINÉMIE (g par litre) | LIPÉMIE (g par litre) | CHOLESTÉROL TOTAL (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE APRÈS INCUBATION (g par litre) | E/T | POURCENTAGE D'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL LIBRE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 64,3 | 3,3 | 0,20 | 0,06 | 0,02 | 0,70 | 66 |
| 2 | 59,1 | 7,6 | 0,50 | 0,23 | 0,16 | 0,50 | 30 |
| 3 | 53,0 | 21,4 | 1,17 | 0,85 | 0,71 | 0,27 | 16 |
| 4 | 49,8 | 22,9 | 1,42 | 1,09 | 1,00 | 0,23 | 8,2 |
| 5 | 33,9 | 22,0 | 1,18 | ..... | 0,73 | ..... | ..... |

## TABLEAU XIII

LAPIN N° 20. — Saignées effectuées tous les jours (20 cm³ environ).

| SAIGNÉES | PROTÉINÉMIE (g par litre) | LIPÉMIE (g par litre) | CHOLESTÉROL TOTAL (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE APRÈS INCUBATION (g par litre) | E/T | POURCENTAGE D'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL LIBRE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 57,2 | 1,87 | 0,31 | 0,02 | Indosable | 0,9 | environ 90 |
| 2 | 54,6 | 2,27 | 0,42 | 0,02 | Indosable | 0,9 | environ 90 |
| 3 | 48,1 | 3,75 | 0,67 | 0,11 | 0,02 | 0,8 | 81 |
| 4 | 41,4 | 10,00 | 1,10 | 0,19 | 0,16 | 0,8 | 50 |
| 5 | 26,6 | 3,87 | 0,87 | 0,17 | 0,14 | 0,8 | 42 |

## TABLEAU XIV

Lapin n° 15. — Saignées effectuées tous les jours (20 cm³ environ).

| Saignées | Protéinémie (g par litre) | Lipémie (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Cholestérol libre après incubation (g par litre) | E/T | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 61,0 | 2,60 | 0,21 | 0,05 | 0,02 | 0,7 | 60 |
| 2 | 53,2 | 11,3 | 0,90 | 0,48 | 0,37 | 0,4 | 22 |
| 3 | 52,3 | 9,4 | 0,57 | 0,33 | 0,15 | 0,4 | 54 |
| 4 | 33,5 | 7,5 | 0,45 | 0,24 | 0,22 | 0,4 | 8 |

## TABLEAU XV

Lapin n° 30. — Saignées effectuées tous les jours (20 cm³ environ) pendant cinq jours; la sixième saignée deux jours plus tard.

| Saignées | Protéinémie (g par litre) | Lipémie (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Cholestérol libre après incubation (g par litre) | E/T | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 64,0 | 3,1 | 0,21 | 0,06 | 0,03 | 0,7 | 50 |
| 2 | 59,0 | 4,3 | 0,28 | 0,08 | 0,03 | 0,7 | 62 |
| 3 | 58,0 | 12,2 | 0,71 | 0,34 | 0,17 | 0,5 | 50 |
| 4 | 53,8 | 22,8 | 1,31 | 0,82 | 0,71 | 0,3 | 13 |
| 5 | 49,8 | 16,3 | 1,42 | 0,85 | 0,68 | 0,4 | 20 |
| 6 | 62,0 | 11,1 | 1,22 | 0,44 | 0,32 | 0,6 | 27 |

## TABLEAU XVI

Lapin n° 31. — Saignées effectuées tous les jours (20 cm³ environ) pendant cinq jours (deuxième à la cinquième saignée); après deux jours de repos, cinq nouvelles saignées tous les jours (sixième à la dixième); deux jours de repos, puis deux nouvelles saignées (onzième et douzième).

| Saignées | Protéinémie (g par litre) | Lipémie (g par litre) | Cholestérol total (g par litre) | Cholestérol libre (g par litre) | Cholestérol libre après incubation (g par litre) | E/T | Pourcentage d'estérification du cholestérol libre |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 62,0 | 4,3 | 0,50 | 0,08 | 0,01 | 0,8 | 50 |
| 2 | 59,0 | 5,5 | 0,62 | 0,14 | 0,10 | 0,7 | 28 |
| 3 | 56,0 | 9,3 | 0,75 | 0,26 | 0,22 | 0,6 | 15 |
| 4 | 57,5 | 8,0 | 0,70 | 0,24 | 0,08 | 0,6 | 66 |
| 5 | 61,8 | 4,7 | 0,60 | 0,09 | 0,06 | 0,8 | 33 |
| 6 | 62,6 | 5,9 | 0,61 | 0,16 | 0,11 | 0,7 | 31 |
| 7 | 59,6 | 7,6 | 0,71 | 0,15 | 0,10 | 0,7 | 33 |
| 8 | 60,3 | 5,4 | 0,65 | 0,14 | 0,08 | 0,7 | 42 |
| 9 | 56,7 | 8,7 | 0,67 | 0,22 | 0,17 | 0,6 | 22 |
| 10 | 59,2 | 10,0 | 0,75 | 0,26 | 0,14 | 0,6 | 46 |
| 11 | 63,2 | 4,8 | 0,51 | 0,16 | 0,13 | 0,6 | 18 |
| 12 | 65,2 | 5,1 | 0,53 | 0,18 | 0,10 | 0,6 | 44 |

TABLEAU XVII

LAPIN N° 45. — Saignées effectuées tous les jours (20 cm³ environ).

| SAIGNÉES | PROTÉINÉMIE (g par litre) | LIPÉMIE (g par litre) | CHOLESTÉROL TOTAL (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE APRÈS INCUBATION (g par litre) | E/T | POURCENTAGE D'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL LIBRE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 80,2 | 6,9 | 0,90 | 0,15 | 0,07 | 0,85 | 53 |
| 2 | 67,5 | 3,2 | 0,82 | 0,07 | Indosable | 0,91 | ..... |
| 3 | 63,3 | 5,5 | 0,74 | 0,15 | 0,08 | 0,79 | 46 |
| 4 | 54,2 | 27,5 | 1,97 | 1,08 | 0,99 | 0,45 | 8,3 |
| 5 | 57,2 | 45,5 | 3,10 | 2,11 | 1,97 | 0,31 | 6,6 |
| 6 | 69,0 | 74,8 | 6,00 | 2,90 | ..... | 0,51 | ..... |
| 7 | 60,0 | 33,5 | 3,99 | 2,13 | ..... | 0,46 | ..... |
| 8 | 52,0 | 22,9 | 2,88 | 1,16 | ..... | 0,59 | ..... |
| 9 | 62,4 | 20,7 | 2,98 | 1,18 | 1,11 | 0,60 | 6,3 |
| 10 | 57,4 | 7,7 | 1,11 | 0,42 | 0,27 | 0,62 | 35 |

## TABLEAU XVIII

LAPIN N° 33. — Saignées effectuées tous les jours (20 cm³ environ) pendant cinq jours (première à la cinquième saignée); après deux jours de repos, cinq nouvelles saignées tous les jours (sixième à la dixième); après deux nouveaux jours de repos, deux nouvelles saignées.

| SAIGNÉES | PROTÉINÉMIE (g par litre) | LIPÉMIE (g par litre) | CHOLESTÉROL TOTAL (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE (g par litre) | CHOLESTÉROL LIBRE APRÈS INCUBATION (g par litre) | E/T | POURCENTAGE D'ESTÉRIFICATION DU CHOLESTÉROL LIBRE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 58,7 | 3,5 | 0,25 | 0,12 | 0,08 | 0,5 | 33 |
| 2 | 50,7 | 4,0 | 0,32 | 0,17 | 0,07 | 0,4 | 58 |
| 3 | 46,7 | 12,1 | 0,66 | 0,54 | 0,33 | 0,18 | 38 |
| 4 | 45,8 | 21,6 | 1,25 | 0,94 | 0,70 | 0,24 | 25 |
| 5 | 50,1 | 24,8 | 1,68 | 1,18 | 1,05 | 0,13 | 11 |
| 6 | 59,7 | 9,5 | 0,77 | 0,46 | 0,37 | 0,4 | 19 |
| 7 | 58,2 | 13,3 | 1,05 | 0,66 | 0,52 | 0,3 | 21 |
| 8 | 56,2 | 12,5 | 0,95 | 0,50 | 0,28 | 0,4 | 44 |
| 9 | 57,7 | 10,7 | 0,87 | 0,46 | 0,27 | 0,4 | 41 |
| 10 | 56,8 | 12,7 | 0,90 | 0,48 | 0,28 | 0,4 | 41 |
| 11 | 58,8 | 7,1 | 0,69 | 0,33 | 0,22 | 0,5 | 33 |
| 12 | 57,2 | 9,0 | 0,78 | 0,37 | 0,28 | 0,5 | 24 |

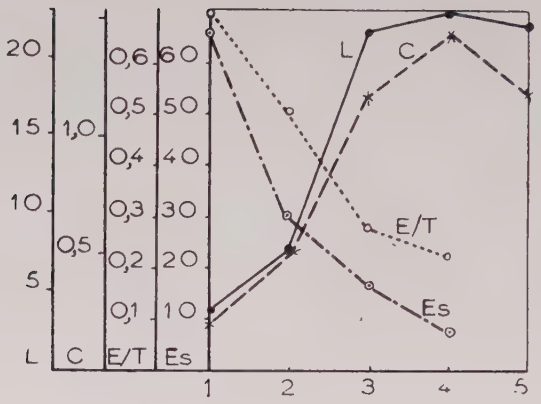



Fig. 30.

Courbes représentatives des variations de la lipémie, de la cholestérolémie, du rapport E/T et de la capacité d'estérification du cholestérol en fonction du temps (jours).

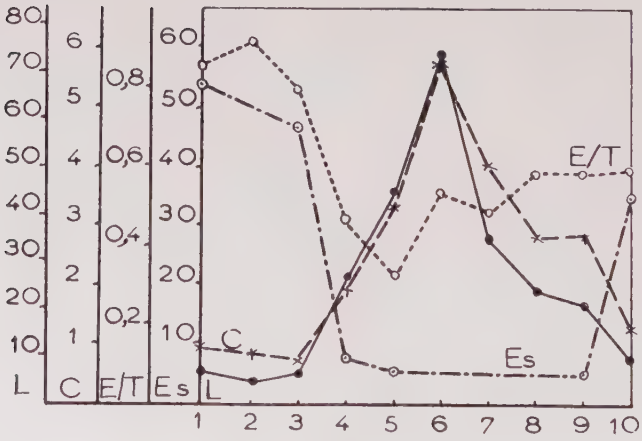



Fig. 31.

Courbes représentatives des variations de la lipémie, de la cholestérolémie, du rapport E/T et de la capacité d'estérification du cholestérol en fonction du temps (jours).

noter à ce sujet que les sérums hyperlipémiques et hypercholestérolémiques présentent un aspect lactescent; les graisses qui donnent cet aspect au sérum se trouvent constituées par du cholestérol et des glycérides. Cet aspect lactescent doit être rattaché à la teneur relativement basse du sérum en phospholipides; ces derniers, on le sait, conditionnent la stabilité en phase aqueuse des autres lipides (Arhens et Kunkel [2]).

Nous nous trouvons donc amené à conclure que le défaut d'estérification de nos sérums se trouve lié à un trouble dans l'état de dispersion du cholestérol. Pour justifier cette opinion, nous avons étudié les diagrammes électrophorétiques du sérum de nos lapins. La fig. 32 rend compte des résultats obtenus pour le lapin n° 18. Elle indique, pour

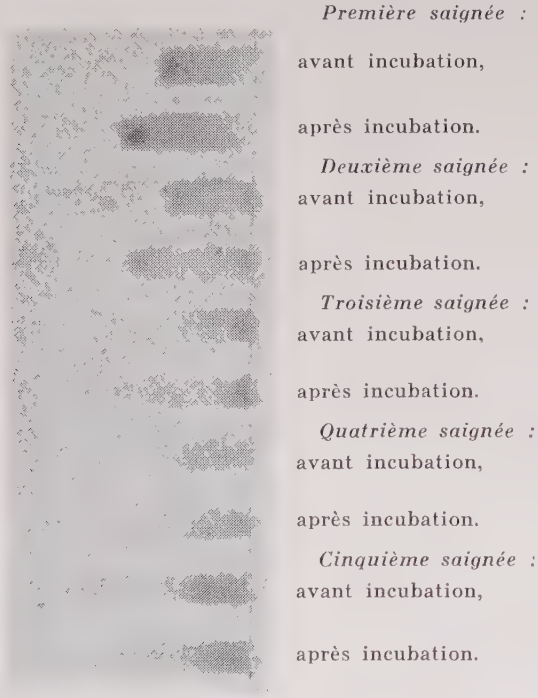



Fig. 32.

Lipidogramme de lapin. Influence des saignées.

chaque saignée, le lipidogramme avant et après incubation à 37° (soixante-douze heures). Signalons que les protéinogrammes correspondant à chaque saignée ne montrent que des modifications quantitatives, l'aspect général restant toujours identique.

Nos résultats montrent qu'initialement le lipidogramme présente l'aspect normal : on constate, en effet, le passage habituel des lipides de la zone $\beta$ sur la zone $\alpha$. Au cours de la seconde saignée, le phénomène est encore net; cependant, certains lipides ne migrent plus et restent sur la ligne de départ. A partir de la troisième saignée, des perturbations très nettes apparaissent et l'aspect habituel a presque disparu. Il faut encore noter que l'hyperlipémie constatée dans les derniers échantillons de sérum n'apparaît pas sur les lipidogrammes; cela laisse supposer que les lipides ont dû se détacher des protéines et être entraînés au cours de la révélation des lipidogrammes et probablement par le traitement à l'alcool à 50°.

L'électrophorèse des lipides avant et après incubation du sérum met bien en évidence le parallélisme qui existe entre l'estérification du cholestérol et son état de dispersion.

Ces divers résultats vont nous permettre de fournir une explication à l'hyperlipémie qui caractérise le syndrome néphrosique et à celle qui accompagne l'hypoprotéinémie expérimentale.

Lorsque s'installe l'hypoprotéinémie, il apparaît un déséquilibre entre les lécithino-protéines et les autres substances lipidiques (glycérides et cholestérol); il résulte que ces dernières substances ne peuvent plus se trouver sous une forme normale au sein de l'association lipido-protéidique (conception de Arhens et Kunkel). Sous cet état anormal, le cholestérol échappe à l'estérification et ne peut plus effectuer sa migration dans la zone $\beta$ sur la zone $\alpha$. Or, nous avons été conduit à penser que seuls les lipides des $\alpha$ globulines pouvaient être utilisés par les tissus ou par les réserves (voir p. 67). Le cholestérol et les glycérides ne

trouvant plus leur voie normale de sortie s'accumulent dans le sang et plus l'hypoprotéinémie s'accentue, plus l'hyperlipémie s'aggrave.

Lorsque la protéinémie tend de nouveau vers sa valeur normale, on constate alors que les lipides et le cholestérol s'abaissent, ramenant automatiquement à des valeurs moins extrêmes le rapport E/T et le pouvoir d'estérification du cholestérol.

### Conclusions du chapitre VII

Nous avons effectué des saignées journalières chez des lapins afin de provoquer l'hypoprotéinémie, l'hyperlipémie et l'hypercholestérolémie.

Chez ces animaux, nous avons suivi, en plus de ces symptômes, les variations du rapport E/T et la capacité d'estérification du cholestérol.

Les résultats que nous avons obtenus nous permettent d'expliquer l'hyperlipémie et l'hypercholestérolémie qui accompagnent l'hypoprotéinémie.

# CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons abordé notre travail par deux mises au point : l'une sur les associations lipido-protéidiques du sérum sanguin, l'autre sur l'estérification du cholestérol sérique.

Il est admis aujourd'hui que, dans le sérum sanguin, les lécithines se trouvent unies aux protéines par des liaisons ioniques (union entre un groupe électropositif de la protéine et un groupe électronégatif de la lécithine) ; les autres substances lipidiques, cholestérol estérifié ou non et glycérides, sont fixées aux lécithines par des forces de Van der Waals ; l'eau représente un constituant structural de ces associations. Les lécithines constituent ainsi le trait d'union entre les protéines et les autres substances lipidiques.

Lorsque l'on place à l'étuve à 37° et pendant soixante-douze heures du sérum frais, le taux en cholestérol libre diminue au profit du cholestérol estérifié. Cette estérification du cholestérol a été attribuée à la présence d'un enzyme, la *cholestérolestérase* (Sperry) ; les acides gras nécessaires à l'estérification du cholestérol proviennent de la décomposition des lécithines, catalysée par la *lécithase B* (M^lle^ Le Breton et Pantaléon). Les sels biliaires, l'hémolysat de globules rouges (Sperry et Stoyanoff), l'acide monobromacétique, le phloridzoside et le thymol (M^lle^ Le Breton et Pantaléon) inhibent l'estérification du cholestérol ; les trois derniers constitueraient en réalité des inhibiteurs de la lécithase.

A la suite d'études comparatives entre l'estérification du cholestérol dans la lumière intestinale, sous l'influence de la cholestérolestérase pancréatique, et celle du cholestérol sanguin, Swell et Treadwell mettent en doute l'existence d'une cholestérolestérase sérique chez la plupart des animaux (sauf le chien) ; l'estérification du cholestérol sérique constituerait, selon ces auteurs, un phénomène physico-chimique lié à l'état de dispersion du cholestérol; tout facteur modifiant cet état de dispersion (chauffage à 56°, dilution) ralentirait ou même empêcherait l'estérification du cholestérol.

Nos recherches expérimentales ont tout d'abord consisté à étudier l'inhibition de l'estérification du cholestérol par les sels biliaires. Nous avons remarqué qu'à l'état de complexes avec les protéines, l'effet inhibiteur des sels biliaires se trouve considérablement augmenté. Cette constatation nous a permis d'émettre deux types de conclusions :

*a)* Le pouvoir inhibiteur exercé par les sels biliaires dans le sérum des malades cholalémiques avait été mis en doute en raison de la disproportion existant entre les quantités de sels biliaires nécessaires pour inhiber l'estérification du cholestérol (2,5 p. 1.000) et les cholalémies les plus élevées (0,15 p. 1.000). Dans le sérum de ces malades, les sels biliaires se trouvent à l'état de complexes avec les protéines; on conçoit ainsi que leur pouvoir inhibiteur soit très notablement plus élevé et on peut les considérer comme responsables, partiellement tout au moins, de la valeur particulièrement basse du rapport E/T chez certains malades cholalémiques.

*b)* Pour inhiber totalement l'estérification du cholestérol sérique, il faut mettre en œuvre des quantités de sels biliaires quatre fois supérieures à la teneur en cholestérol. Ce chiffre est tout à fait conforme aux données de Tayeau, concernant la décomposition des lipoprotéines sériques, et à celles de Dervichian et Magnant, ayant montré qu'un

état de dispersion complet du cholestérol à l'état de complexe hydrostable nécessite une quantité de constituant hydrosoluble quatre fois plus élevée que celle du constituant hydrophobe.

A l'état de complexes avec les protéines, les sels biliaires inhibent totalement l'estérification du cholestérol, lorsque des quantités équimoléculaires de ces substances sont mises en jeu. Dans ce cas, il faut admettre une action *icélomorphe,* molécule à molécule, suivant la conception de Machebœuf.

Dans un cas comme dans l'autre, le cholestérol n'est plus dans le même état de dispersion et son estérification n'a plus lieu. Ces constatations se montrent conformes aux conceptions de Swell et Treadwell.

La similitude relative entre l'action des sels biliaires et celle des saponosides sur les cénapses lipido-protéidiques (Tayeau) nous a incité à étudier l'action exercée par les saponosides sur l'estérification du cholestérol. Nous avons ainsi découvert de nouvelles substances inhibant l'estérification du cholestérol, les *saponosides.* Ces substances exercent un effet comparable à celui des sels biliaires et leur pouvoir inhibiteur se trouve nettement augmenté lorsqu'ils sont à l'état de complexes avec les protéines. A poids égal, les saponosides sont deux fois moins actifs que les sels biliaires; cela n'est pas étonnant lorsque l'on sait que leur copule glucidique représente environ 50 p. 100 de leur poids. Cette constatation apporte un argument en faveur de l'effet icélomorphe auquel nous avons fait précédemment allusion.

Nous avons cherché ensuite à étudier parallèlement l'estérification du cholestérol sérique *in vitro* et la stabilité des associations lipido-protéidiques. Cette stabilité a pu être appréciée par la méthode électrophorétique.

Si l'on suit les diagrammes électrophorétiques (protéinogramme et lipidogramme) d'un sérum au cours du séjour à 37° et pendant soixante-douze heures, on constate que,

si le protéinogramme se modifie d'une manière insignifiante, il n'en est pas de même du lipidogramme; les lipides de la zone globuline $\beta$ passent sur la zone globuline $\alpha$. Ce « changement d'hôte » observé avec divers sérums (homme, cheval, chien, bœuf, lapin, cobaye) se trouve ralenti et même parfois empêché par tous les inhibiteurs de l'estérification du cholestérol (sels biliaires, saponosides, monobromacétate, phloridzoside). Tous les facteurs qui stoppent ou ralentissent l'estérification du cholestérol (chauffage à 56°, dilution, salification, vieillissement) exercent le même effet sur la modification du lipidogramme. Il existe donc un étroit parallélisme entre la stabilité des associations lipido-protéidiques et l'estérification du cholestérol.

Nous avons étudié ensuite le pouvoir cholestérolytique du sérum et nous avons montré ses rapports avec la stabilité des associations lipido-protéidiques. Une étude sur les sérums cholalémiques a mis en évidence les rapports *in vivo* entre l'estérification du cholestérol et la stabilité des lipoprotéines sériques. Ce rapport s'est trouvé encore justifié par l'examen de quelques sérums néphrosiques.

Enfin, nous avons étudié chez des lapins soumis à de fréquentes saignées l'hyperlipémie et l'hypercholestérolémie consécutives à l'hypoprotéinémie; une étude du sérum concernant le pouvoir estérifiant vis-à-vis du cholestérol et divers examens électrophorétiques nous permettent d'expliquer le mécanisme suivant lequel apparaissent l'hyperlipémie et l'hypercholestérolémie.

Ces divers résultats permettent de préciser certains points intéressant le métabolisme du cholestérol et le problème du transport des graisses.

# BIBLIOGRAPHIE


1. Abderhalden (E.) & Weil (A.). — *Fermentforsch.*, 1920, **4**, 76.
2. Ahrens (E. H. Jr.) & Kunkel (H. G.). — *J. exp. Med.*, 1949, **90**, 409.
3. Alkalay (E.) & Favarger (P.). — *Arch. intern. Pharm. Thérap.*, 1942, **68**, 332.
4. Ardry (R.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1951, **33**, 236.
5. Arnoux (H.). — *Méd. trop.*, 1950, **10**, 837.
6. Balansart (J.) & Bouvetier (E.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1942, **24**, 1340.
7. Bénard (H.) & Chabrol (E.). — *In* Cholestérol et Nutrition, 1 vol., Société générale des eaux minérales de Vittel, édit., Vittel, 1952, p. 12.
8. Bénard (H.), Desgrez (P.), Gajdos (A.), Lambotte (F.) & Polonovski (M.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, **31**, 170.
9. Bénard (H.), Desgrez (P.), Gajdos (A.), Lambotte (F.) & Polonovski (M.). — *Sem. Hôp.*, 1949, **25**, 1.
10. Blass (J.), Springel (P.) & Machebœuf (M.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **75**, 442.
11. Boyd (E. M.). — *Trans. Roy. Soc. Canada*, 1937, **31**, 11.
12. Breton (J.). — *Soc. Bordelaise de Biologie*, 1947, pli cacheté.
13. Browaeys (J.) & Dervichian (D. G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 136.
14. Caminade (R.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1922, **4**, 601.
15. Cerf de Mauny (H.). *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **127**, 272.
16. Chabrol (E.), Blanchon (P.) & Pelou. — *Sem. Hôp.*, 1945, **21**, 1025.
17. Chabrol (E.), Boszormezyi (M.) & Fallot (P.). — *Sem. Hôp.*, 1949, **25**, 3446.
18. Chabrol (E.), Boszormezyi (M.) & Fallot (P.). — *Rev. intern. Hépatol.*, 1951, **1**, 11.
19. Chargaff (E.). — *Adv. Prot. Chem.*, 1944, **1**, 18.
20. Charonnat (R.). — *In* Cholestérol et Nutrition, 1 vol., Société générale des eaux minérales de Vittel, édit., Vittel, 1952, p. 49.

21. Clément (G.) & Frisch (A. M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140,** 472.
22. Cleve (H.) & Hartmann (F.). — *Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol.*, 1954, **223,** 198.
23. Cytronberg (S.). — *Biochem. Z.*, 1912, **45,** 281.
24. Delage (B.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1936, **18,** 1304.
25. Delsal (J. L.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, **31,** 122.
26. Dervichian (D. G.). — *Trans. Faraday Soc.*, 1946, **42 B,** 180.
27. Dervichian (D. G.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1946, **28,** 433.
28. Dervichian (D. G.). — *Disc. Faraday Soc.*, 1949, **n° 6,** 7.
29. Dervichian (D. G.). — International Colloquium over Biochemische Problemen der lipiden, Brussel, 1953, 92.
30. Dervichian (D. G.). & Magnant (C.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140,** 94.
31. Dormeyer (C.). — *Pflügers Arch.*, 1896, **65,** 90.
32. Durrum (E.), Paul (M. H.) et Smith (E. R. B.). — *Science*, 1952, **116,** 428.
33. Eck (M.) & Desbordes (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **117,** 428, 429 et 615.
34. Erlandsen (A.). — *Z. physiol. Chem.*, 1907, **51,** 71.
35. Faber (M.). — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1952, **4,** 198.
36. Favarger (P.). — *Arch. intern. Pharm. Thérap.*, 1944, **68,** 409.
37. Favarger (P.) & Metzger (E. F.). — *Schweiz. med. Wochschr.*, 1952, **82,** 850.
38. Fiessinger (N.), Hazard (R.), Ravasses (J.) & Charles (G.). — *Rev. Foie*, 1943, **4,** 345.
39. Fishberg (E. H.). *J. biol. Chem.*, 1929, **81,** 205.
40. Fontaine (T.), Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137,** 611.
41. Forscher. — *J. exp. Med.* (U. S. A.), 1924, **5,** 323; d'après Brocq-Rousseu (D.) et Roussel (G.) : Le sérum normal, 3 vol., Vigot, édit., Paris, 1949.
42. Gorter (E.) & Hermans (J.). — *Proc. Nederl. Acad. Wet.*, 1942, **45,** 804 et 808.
43. Govers (J. J.). — Th. Méd., Amsterdam, 1954.
44. Gronwall (A.). — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1952, **4,** 270.
45. Hardy (W. B.) & Gardiner (S.). — *J. Physiol.*, 1910, **40,** LXVIII.
46. Hartley (G. S.), Collie (B.) & Samis (C. S.). — *Trans. Faraday. Soc.*, 1936, **32,** 795.
47. Hewitt (L. F.). — *Biochem. J.*, 1938, **32,** 26.
48. Hoefmeister (F.). — *Arch. exp. Pathol. Pharm.*, 1889, **25,** 1 et **27,** 395.
49. Hoppe-Seyler (F.). — *Handb. phys. Chem.*, 1870, **3,** 196.
50. Imaizumi (M.). — *J. Biochem. (Japan)*, 1938, **27,** 227.

51. Ker (W. J.), Hurwitz (S. H.) et Whipple (G. H.). — *Am. J. Physiol.*, 1918, **47,** 379.
52. Klein (W.). — *Z. physiol. Chem.*, 1937, **254,** 1 et 1939, **259,** 268.
53. Klotz (I. M.). — *Chem. Rev.*, 1947, **41,** 376.
54. Kondo (M.). — *Biochem. Z.*, 1910, **26,** 243 et **27,** 427.
55. Kumagawa & Suto. — *Biochem. Z.*, 1908, **8,** 213, 250, 340 et 347.
56. Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138,** 20.
57. Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138,** 36.
58. Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138,** 38.
59. Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — *Arch. Sc. physiol.*, 1947, **1,** 63.
60. Le Breton (E.) & Pantaléon (J.). — *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1947, **7,** 111.
61. Lederer (J.) & Canivez (R.). — *In* Cholestérol et Nutrition, 1 vol., Société Générale des eaux minérales de Vittel, édit., Vittel, 1952, p. 189.
62. Lemaire (A.), Lœper (J.) & Lœper (J.). — *In* Cholestérol et Nutrition, 1 vol., Société Générale des eaux minérales de Vittel, édit., Vittel, 1952, p. 135.
63. Lœper (M.), Lemaire (A.) & Lesure (A.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, **98,** 101.
64. Long (J. H.) & Gephart (F.). — *J. Am. chem. Soc.*, 1908, **30,** 881 et 1312
65. Mc Farlane (A. S.). — *Biochem. J.*, 1935, **29,** 1209.
66. Mc Farlane (A. S.). — *Nature*, 1942, **149,** 439.
67. Mc Farlane (A. S.) & Knight (B. C.). — *Biochem. J.*, 1948, **42,** 587.
68. Machebœuf (M.). — Th. Sc., Paris, 1928.
69. Machebœuf (M.). — L'état des lipides dans la matière vivante, 1 vol., Hermann et Cie, édit., Paris, 1937.
70. Machebœuf (M.). — *Exp. ann. Biochim. méd.*, 1945, **5,** 71.
71. Machebœuf (M.). — *Arch. Sc. physiol.*, 1948, **11,** 137.
72. Machebœuf (M.), Rebeyrotte (P.), Dubert (J. M.) & Brunerie (M.). — Microélectrophorèse sur papier, 1 vol., Papeterie d'Antin, édit., Paris, 1954.
73. Machebœuf (M.), Le Monze (M.) & Duhart (J.). — *In* Machebœuf (M.) : *Gaz. hebd. Sc. méd. Bordeaux*, 1939, **60,** 435.
74. Machebœuf (M.) & Perrimond-Trouchet (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **132,** 274 et 585.
75. Machebœuf (M.) et Rebeyrotte (P.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26,** 475.

76. Machebœuf (M.) & Sandor (G.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1931, **13**, 508.
77. Machebœuf (M.) & Sandor (G.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1932, **194**, 1102 et *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1932, **14**, 1168.
78. Machebœuf (M.) & Tayeau (F.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1938, **206**, 860 et *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, 1181.
79. Machebœuf (M.) & Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129**, 1184 et *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1941, **23**, 49.
80. Mauriac (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1912, **73**, 675.
81. Mauriac (P.), Servantie (L.) & Demenier (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115**, 558.
82. Miniconi (P.). — *Soc. nat. Fr. Gastroentérol.*, 1954; d'après *Presse méd.*, 1954, **62**, 1746.
83. Mueller (J.). — *J. biol. Chem.*, 1916, **25**, 561.
84. Nagler (F. P. O.). — *Brit. J. exp. Pathol.*, 1939, **20**, 473.
85. Nedzvetskii (S.). — *Biokhimiya*, 1937, **2**, 758.
86. Nguyen van Thoai. — *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, 467.
87. Nieft (M. L.) & Deuel (H. Jr.). — *J. biol. Chem.*, 1949, **177**, 143.
88. Nomura (T.). — *Tohoku J. exp. Med.*, 1923, **4**, 677 et 1924, **5**, 323.
89. Ottolenghi-Lodigiani (F.). — *Giorn. Ital. Dermatol. Sifil.*, 1948, 1.
90. Pantaléon (J.). Th. Sc., Paris, 1944.
91. Pérez (J. J.). Th. Sc., Paris, 1939.
92. Polonovski (J.). Th. Sc., Paris, 1950.
93. Polonovski (J.), Faure (M.) & Machebœuf (M.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1948, **227**, 1420.
94. Polonovski (J.) & Machebœuf (M.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74**, 196.
95. Putnam (F. W.). — *Adv. Prot. Chem.*, 1948, **4**, 78.
96. Putnam (F. W.) & Neurath (H.). — *J. biol. Chem.*, 1943, **150**, 263 et 1945, **159**, 195; *J. Am. chem. Soc.*, 1944. **66**, 692 et 1992.
97. Rabinovitch (I. M.). — *Arch. intern. Med.*, 1930, **46**, 752.
98. Rebeyrotte (P.). Th. Univ. (Sc.), Paris 1954.
99. Rouhi (A.), Blass (J.) et Polonovski (J.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1954, **36**, 1417.
100. Salviano (M.) & Baccari (V.). — *Arch. Sc. Biol. (Italia)*, 1946, **31**, 22.
101. Schœlly (O.) & Favarger (P.). — *Helv. Physiol. Acta*, 1951, **9**, 77 et 1952, **10**, 29; *Helv. Chim. Acta*, 1953, **36**, 90.
102. Schœnheimer (R.) & Sperry (W. M.). — *J. biol. Chem.*, 1934, **106**, 745.
103. Schramm (G.) & Wolf (A.). — *Z. physiol. Chem.*, 1940, **263**, 61.
104. Schultz (I.). — *Biochem. Z.*, 1912, **42**, 255.

105. Schwahn (B.). — *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1952, **4**, 98.
106. Schwert (G. W.), Putnam (F. W.) & Briggs (D. A.). — *Arch. Biochem.*, 1944, **4**, 371.
107. Slizewicz (P.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1954, **86**, 458.
108. Sœrensen (S. P. L.). — *C. R. Lab. Carlsberg*, 1930, **18**, n° 5, 1.
109. Sœrensen (S. P. L.). — *C. R. Lab. Carlsberg*, 1930, **18**, 124.
110. Sperry (W. M.). — *J. biol. Chem.*, 1935, **111**, 467.
111. Sperry (W. M.). — *J. biol. Chem.*, 1936, **114**, 125.
112. Sperry (W. M.) & Stoyanoff (V.). — *J. biol. Chem.*, 1937, **117**, 525.
113. Sperry (W. M.) & Stoyanoff (V.). — *J. biol. Chem.*, 1937, **121**, 101.
114. Swell (L.), Byron (J. E.) & Treadwell (C. R.). — *J. biol. Chem.*, 1950, **186**, 543.
115. Swell (L.), Field (H. Jr.) & Treadwell (C. R.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1953, **84**, 417.
116. Swell (L.) & Kramer (N. C.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1953, **82**, 197.
117. Swell (L.) & Treadwell (C. R.). — *J. biol. Chem.*, 1950, **182**, 479.
118. Swell (L.) & Treadwell (C. R.). — *J. biol. Chem.*, 1950, **185**, 349.
119. Tayeau (F.). — Th. Sc., Bordeaux, 1939.
120. Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **130**, 1029.
121. Tayeau (F.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1941, **212**, 575.
122. Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, 239 et *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 295.
123. Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137**, 240.
124. Tayeau (F.). — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1943, **81**, 63.
125. Tayeau (F.). — Th. Méd., Bordeaux, 1944.
126. Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 63.
127. Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 423.
128. Tayeau (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 700.
129. Tayeau (F.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 287.
130. Tayeau (F.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1944, **26**, 293.
131. Tayeau (F.). — *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1945, **83**, 62 et 89.
132. Tayeau (F.). — *Ann. Biol. clin.*, 1950, **8**, 602.
133. Tayeau (F.). — *Méd. trop.*, 1950, **10**, 841.
134. Tayeau (F.) & Blanquet (P.). — *In* Recent advances in surface chemistry, 1 vol., Butterworths, édit., London, 1948, p. 329.
135. Tayeau (F.) & Breton (J.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 756 et *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29**, 680.
136. Tayeau (F.) & Florentin-Martin (M.). — *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1945, **27**, 314.

137. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — *J. Physiol.*, 1951, **43**, 876.
138. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — *Rev. intern. Hépatol.*, 1952, **1**, 644.
139. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — *C. R. Acad. Sc.*, 1955, **240**, 567.
140. Tayeau (F.) & Nivet (R.). — Travail inédit.
141. Tayeau (F.), Nivet (R.) & Reiss (D.). — Travail inédit.
142. Tayeau (F.) & Pautrizel (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 308.
143. Tayeau (F.) & Pissot (J.). — Travail inédit.
144. Tayeau (F.) & Rolland (R.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 511 et *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1947, **29**, 108.
145. Thannhauser (S. J.). — *Deut. Arch. klin. Med.*, 1923, **141**, 290.
146. Thudicum, *in* Machebœuf [69].
147. Troensegaard (N.) & Koudahl (B.). — *Z. physiol. Chem.*, 1926, **153**, 93 et 111.
148. Turner (K. B.) & Pratt (V.). — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1949, **71**, 633.
149. Van Creveld (S.) & Arons (P.). — *Arch. Franç. Péd.*, 1947, **4**, 3.
150. Wagner (A.) & Kogalski (L.). — *J. Lab. clin. Med.*, 1952, **40**, 324.
151. Windaus. — *Hoppe-Seyler Z. physiol. Chem.*, 1910, **67**, 174.
152. Yamamoto (R. S.), Goldstein (N. P.) & Treadwell (C. R.). — *J. biol. Chem.*, 1949, **180**, 615.

# TABLE DES MATIÈRES


Pages

Introduction ..... 1

PREMIÈRE PARTIE

**Etude historique**

Chapitre premier. — Les associations lipido-protéidiques au sein du sérum. Etat du cholestérol sérique ..... 7

I. — Les cénapses lipido-protéidiques ..... 8

II. — Conceptions nouvelles sur les associations lipido-protéidiques ..... 10

III. — Autres types de cénapses ..... 13

IV. — Biogenèse des cénapses lipido-protéidiques ..... 14

V. — Le fractionnement des lipoprotéines ..... 15

Chapitre II. — Les formes du cholestérol sérique ..... 17

I. — La cholestérolestérase sérique ..... 18

II. — Cholestérolestérase et lécithase ..... 20

III. — Mise en doute de la cholestérolestérase sérique .. 22

DEUXIÈME PARTIE

**Recherches expérimentales**

Chapitre premier. — Le pouvoir inhibiteur des sels biliaires vis-a-vis de l'estérification du cholestérol sérique ..... 27

I. — Etude quantitative du pouvoir inhibiteur des sels biliaires ..... 29

II. — Vitesse de la réaction ..... 31

Pages

III. — Action des sels biliaires en présence de sérum .. 32

Conclusions du chapitre premier ..... 37

Chapitre II. — Le pouvoir inhibiteur des saponosides vis-a-vis de l'estérification du cholestérol sérique ..... 38

I. — Action des saponosides sur l'estérification du cholestérol ..... 38

II. — Action des saponosides en présence de sérum délipidé ..... 40

III. — Etude comparative entre l'action des saponosides et celle des sels biliaires ..... 42

IV. — Etude comparative du pouvoir inhibiteur exercé par divers saponosides ..... 44

Conclusions du chapitre II ..... 48

Chapitre III. — Associations lipido-protéidiques et estérification du cholestérol ..... 49

I. — Action des sels biliaires ..... 54

II. Action des saponosides ..... 56

III. — Action du monobromacétate de sodium ..... 56

IV. — Action du phloridzoside ..... 59

V. — Action du chauffage ..... 60

VI. — Dilution du sérum ..... 61

VII. — Salification ..... 62

VIII. Sérum vieilli ..... 63

Conclusions du chapitre III ..... 66

Chapitre IV. — Associations lipido-protéidiques et pouvoir cholestérolytique du sérum sanguin ..... 68

Conclusions du chapitre IV ..... 72

Chapitre V. — Stabilité des associations lipido-protéidiques et estérification du cholestérol dans le sérum des malades cholalémiques ..... 73

Conclusions du chapitre V ..... 75

Pages

Chapitre VI. — La stabilité des associations lipido-protéidiques et l'estérification du cholestérol chez les néphrosiques ..... 76

Conclusions du chapitre VI ..... 78

Chapitre VII. — L'hyperlipémie et l'hypercholestérolémie des hypoprotéinémies ..... 79

Conclusions du chapitre VII ..... 89

Conclusions générales ..... 91

Bibliographie ..... 95

Bordeaux. — Impr. E. Drouillard, 3, place de la Victoire.